REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 8 ABRIL, 1948 NÚMERO 1

ESTUDOS SÔBRE A FORMOGUANAMINA

I. Mecanismo de ação diurética no cão [1]

SANTIAGO AMERICANO FREIRE
Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, Minas Gerais

(Com 24 figuras no texto)

LIPSCHITZ & HADIDIAN (1) estudando setenta amidas, aminas, amidinas, derivadas da uréa, da pirimidina, da purina e amino derivados do ácido cinúrico, verificaram que pelo método diurético sôbre o rato (2), destes, a melamina, a adenina e a formoguanamina são diuréticos potentes.

Pelo estudo da estrutura química destes 3 novos diuréticos, verificaram que estes como a uréa e os diuréticos derivados da xantina, contém o grupo $= N-\underset{|}{C}-N =$ caracterizado pela ação destes três novos diuréticos, a melamina, a adenina e a formoguanamina (3). (LIPSCHITZ & STOKEY) verificaram ainda que a diurese provocada por estes três novos diuréticos como a provocada pela uréa e cafeína, não é afetada pela pitressina em contraste com a diurese pela água. Pelo método diurético sôbre o rato, a atividade relativa dos três novos diuréticos em relação a uréa como padrão de valor 1, são de 76,5 para a melamina, de 139 para a adenina e de 347 para formoguanamina.

O presente trabalho foi feito para estudar o mecanismo íntimo das ações diuréticas da formoguanamina e das xantinas e si a hipótese por nós levantada de que é o grupo (H.CN) contido na estrutura destes corpos, que pelas suas propriedades semelhantes às do ácido cianídrico, é o responsável pelas ações diuréticas.

---

[1] Recebido para publicação a 28 de Julho de 1947.

Este estudo foi feito a pedido do Laboratório Paulista de Biologia, tendo sido a formoguanamina por nós utilizada, sintetizada pelo Prof. QUINTINO MINGOYA, do mesmo laboratório.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas para o estudo da ação diurética 8 cadelas, das quais 4 normais e 4 com alterações patológicas. Destas, uma tinha hipertensão arterial produzida por perinefrite experimental (verificada pela necrópsia), uma tinha hipertensão arterial de Goldblatt (verificada pela necrópsia), e uma estava sem o lobo posterior da hipófise na qual após uma fase de diabetes insipidus instalou-se oligúria, condição em que foi utilizada e finalmente uma cadela com insuficiência cardíaca congestiva e anasarca em conseqüência de moléstia de Eliages crônica provocada experimentalmente, acompanhada de bloqueio do ramo direito do feixe de Hiss. Apenas uma das cadelas normais sofreu operação com incisão de Falck (4) para a exposição do orifício da uretra porque esta operação não foi necessária para conseguirmos, com um espéculo nasal, expôr o orifício uretral e cateterizá-lo com relativa facilidade, em mais de 100 vezes, em cadelas normais. Feita a drenagem da bexiga, a urina foi colhida por um período metabólico de 7 horas, separando-se as frações de cada hora, sendo calculado o volume de urina eliminada em 5 minutos. Todas as provas foram feitas em animais em jejum há cerca de 16-18 horas, tendo bebido água no mínimo 18 horas antes da prova. Muitas vezes as provas foram repetidas vários dias seguidos, no mesmo animal, para observar o efeito cumulativo de pequenas doses e a duração da ação de grandes doses. Na urina foram determinados o volume total eliminado por período de 5 minutos, e em cada período de 1 hora, a densidade, a concentração de cloretos pelo método de Volhard-Harvey (5), de ácido úrico pelo método de Benedict & Franke (5) e de creatinina pelo método de Folin-Wu (5). Foi também determinado o valor da filtração glomerular por hora e por 5 minutos. Foram pesquisadas albumina, glicose e feito o exame de sedimento na urina de cada período de 1 hora no caso da administração de grandes doses do medicamento. Este foi administrado por via oral, em cápsula gelatinosa introduzida na faringe do animal.

No sangue venoso fluoretado, retirado 4 horas após a administração do medicamento, foram dosados diàriamente cloretos pelo método de Whitehorn (6), creatinina pelo método de Folin-Wu, ácido úrico pelo método de Benedict (5). Nas provas iniciais foram dosados estes elementos no sangue retirado também antes da administração do medicamento. No fim de cada prova o animal recebia o alimento e a água que desejasse, cujo volume foi registrado. O peso do animal foi tomado antes e depois de cada prova. No caso da administração de grandes doses do medicamento foi tomada a pressão arterial máxima diretamente na artéria (7), antes e 4 horas após a sua administração, bem como o pulso. Também em algumas provas foi tomada a temperatura retal com espaço de uma hora e determinado pelo hematócrito a relação plasma-globulos. Em alguns casos foi feita a prova sem medicamento para a determinação dos mesmos dados referidos em condições fisiológicas.

Desde que o cão não secreta creatinina pelos túbulos (8) e que a prova da eliminação da inulina e da creatinina endógena coincidem (9) e como as variações do teor sanguíneo de creatinina são despresiveis, o filtrado glomerular por 5 minutos foi determinado em função da creatinina endógena, de acordo com o método Rehberg (10), bem como a eliminação média de cloretos, ácido úrico e creatinina, por período metabólico de 1 hora e de 5 minutos.

As doses de formoguanamina empregadas variaram de 1-56 mg./kg. administradas num ou em vários períodos metabólicos sucessivos.

Foram feitas provas também com teobromina, uréa, água, ferro cianuretos de potássio para verificar a exatidão da hipótese de que as ações farmacológicas das xantinas e da formoguanamina são devidas ao radical (CN) cianogênio, nelas contido.

QUADRO I

(CADELA N.º 1)

HORAS	Vol. de urina	CLORETOS		Eliminação	CREATININA		Eliminação	$\frac{C_R\ U\%}{C_R\ P\%} = C$	DATA Formoguanamina
	U	Sangue P	Urina U	mg.	Sangue P	Urina U	Creatinina		mg./kg
	cc./min.	mg.%	mg.%	5 min.	mg.%	mg.%	mg./5 min.		
1	0,33	550	200	0,66	1,5	333	1,10	222,0	13-V-46
2	0,20		250	0,50		250	0,50	166,6	56 mg./kg.
3	0,19		400	0,76		333	0,63	222,0	
4	0,61		400	2,44		200	1,22	133,3	
5	0,77		200	1,54		250	1,92	166,6	
6	0,89	535	200	1,78	1,5	166	1,47	110,7	
7	0,91		150	1,36		166	1,51	110,7	250 cc. H^2O
Médias	0,56		257	1,29		243	1,18	161,8	
1	3,05	590	550	16,67	2,0	66	2,01	33,0	14-V-46
2	2,70		500	13,50		100	2,70	50,0	56 mg./kg.
3	1,95		500	9,75		111	2,16	55,5	
4	1,45		450	6,52		142	2,05	71,0	
5	0,59	600	400	2,56	2,0	124	0,73	62,0	
6	0,00		—	—		—	—	—	490 cc. H^2O
Médias	1,62		480	9,82		109	1,95	54,3	
1	1,20		550	6,60	3,0	33	0,39	11,0	15-V-46
2	0,00	590	—	—		—	—	—	
3	0,00		—	—		—	—	—	
4	1,50		500	7,50		35	0,52	11,6	
5	0,00		—	—		—	—	—	
6	2,65		400	10,60		55	1,45	18,3	
7	2,80		350	9,80		62	1,73	20,6	500 cc. H^2O
Médias	1,16		450	8,63		46	1,02	15,4	
1	3,86		500	19,30		35	1,35	5,8	16-V-46
2	3,81		500	19,05		40	1,57	6,6	
3	3,63		550	19,96		43	1,56	7,1	
4	3,53		550	19,31		40	1,01	6,6	
5	3,42		550	18,81		47	1,50	7,8	
6	3,02	545	550	16,61		47	1,41	7,8	
7	3,01		500	15,05		50	1,00	8,3	350 cc. H^2O
Médias	3,47		529	18,31		43	1,34	7,1	

De regra, o medicamento foi administrado no fim da primeira hora metabólica e o sangue retirado no fim da sexta hora.

Todos os dados sôbre a urina são calculados em média por 5 minutos, para cada período metabólico de 7 horas ou quando analisado apenas um destes períodos metabólicos, como média por 5 minutos apenas (Quadros I e II).

QUADRO II

(CADELA N.º 1)

DIA	$C_RP$mg.%	$C_RU$mg.%	$C = \frac{C_RU.mg.\%}{C_RP.mg.\%}$	U 5/min.	F-C×U 5/min.	R-F-U 5/min.	Creat. mgm 5 min.	DENSIDADE	FORMOGUANAMINA
13-V	1,5	243	162	0,56	90,72	90,16	1,18	1030	56 mg./kg.
14-V	2,0	109	54,3	1,62	87,97	86,35	1,95	1018	56 mg./kg.
15-V	3,0	46	15,4	1,16	17,86	16,70	1,02	1014	—
16-V	6,0	43	7,1	3,49	24,78	21,29	1,34	1014	—
17-V	6,1	52	8,5	2,64	22,44	19,80	1,36	1015	—
18-V	6,2	49	7,9	2,67	21,09	18,42	1,27	1014	—
20-V	3,5	61	17,4	2,14	37,24	35,10	1,28	1011	—
21-V	3,0	44	14,6	1,93	28,18	26,25	0,86	1020	—
22-V	3,0	59	19,6	2,94	57,62	54,68	1,63	1015	—
23-V	3,0	57	19	1,79	34,01	32,22	0,97	1005	—
24-V	2,5	89	35,6	2,25	81,10	78,85	1,89	1015	—
25-V	2,7	129	47,7	1,77	4,43	82,66	2,10	1014	—
27-V	2,0	120	60	1,18	70,80	69,62	1,25	—	—
1	1,5	333	222	0,33	73,26	72,93	1,10		
2		250	167	0,20	33,40	33,20	0,50		56 mg./kg.
3		333	222	0,19	42,18	41,99	0,59		
4		200	133	0,61	81,13	80,52	1,22	1030	
5		250	167	0,77	128,59	127,82	1,92		
6	1,5	166	112	0,89	99,68	98,79	1,47		
7		166	112	0,91	101,91	101,01	1,51		

C_RP — Concentração de Creatinina no Plasma
C_RU — Concentração de Creatinina na Urina
C — Poder de concentração do Rim
F — Filtrado Glomerular
R — Reabsorvido Tubular.

Os resultados sôbre os efeitos metabólicos, isto é, sôbre as concentrações de glicose e colesterol, no sangue, serão analisados em trabalho à parte.

ENSAIOS

1.ª Experiência — cadela n.º 1 :

Peso 8,800 kg. Dose de formoguanamina F.G. 56 mg./kg.

Hematócrito — Antes da Fg. Plasma — 67
3 horas depois " 65
24 " " " 69

Um electrocardiograma tirado 2 horas depois da 1.ª dose não revelou nenhuma alteração.

Com esta dose o animal, como aconteceu com outros cães, recusou-se a comer apesar de achar-se em jejum de 24 horas.

A temperatura retal, tomada de hora em hora nos dois dias em que recebeu a formoguanamina, oscilou dentro dos limites normais, isto é, entre 38,5

e 39,0°C. e a freqüência do pulso foi de 115 antes e de 140 batimentos por minuto 3 horas depois do medicamento. A pressão arterial foi de 150 mm. /kg. antes e 3 horas depois da administração do medicamento. O exame de sedimento revelou presença de piócitos nos primeiros dias após as 2 doses de formoguanamina. A pesquisa de albumina foi negativa.

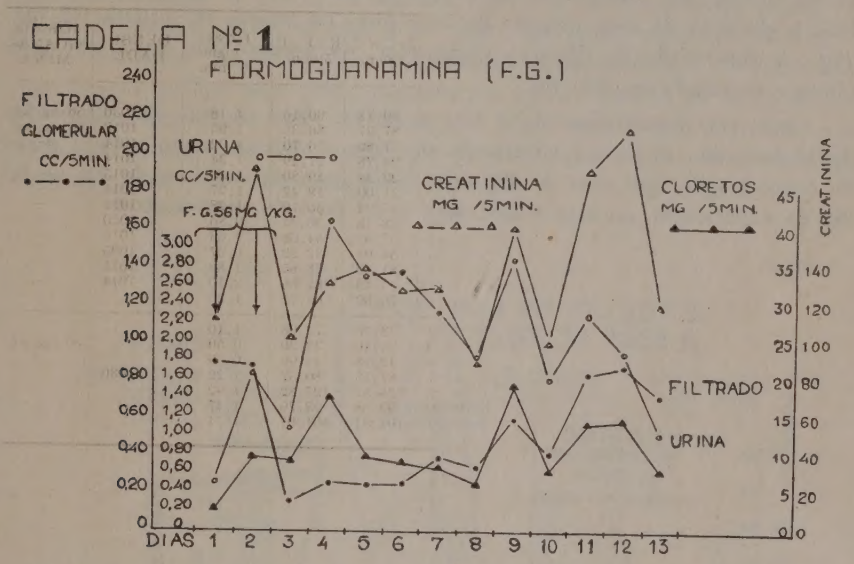


Fig. 1 — 12 períodos metabólicos de 7 horas, sucessivos. Formoguanamina — 56 mg./kg., administrados apenas nos 2 primeiros períodos.

Pelo exame da fig. 1 verifica-se que houve um aumento progressivo da eliminação média de urina, por período de 5 minutos, que atingiu um máximo de 3,33 cc./minuto, 48 horas após a 2.ª dose do medicamento, diminuindo também progressivamente, mantendo-se no entanto acima do volume inicial por 12 dias após a administração da 2.ª dose de F.G. A eliminação média de cloretos aumentou progressivamente de 1,29 mg./5 minutos do 1.º dia, até 17,95 /5 minutos dois dias depois da 2.ª dose mantendo-se em teor acima do inicial até o fim da experiência.

Apesar do volume minuto /5 minutos ter aumentado, houve acentuada queda da filtração glomerular, a partir de 24 horas após a 2.ª dose de F.G., a qual alguns dias após voltou ao volume inicial. A eliminação de creatinina foi proporcional, até certo ponto, à filtração apesar de ter havido uma elevação de sua concentração no sangue de 1,5 para 6,2 mg./kg. quatro dias após a 2.ª dose de F.G. (Quadro II). Mesmo levando em consideração esta oscilação máxima, estas se mantinham com pequena variação, dentro de cada período metabólico de 7 horas podendo-se considerar o cálculo do valor do

filtrado glomerular pelo método de Rehberg, como suficientemente aproximado, para um exame de conjunto.

Pelo exame da fig. 1 conclue-se que si houve aumento do volume de urina apesar de ter diminuido o valor da filtração glomerular, a qual chega a ser no 3.º dia da experiência, cerca de 10 vêzes menor que a inicial, esta queda se deu por diminuição da reabsorção tubular, de água. Pode-se atribuir a elevação da concentração de creatinina no sangue de 1 para 6,2 mg. /kg., à diminuição de filtração glomerular, mecanismo pelo qual esta substância é excretada no cão (10).

Com esta elevada dose de F.G., os efeitos sôbre os rins, são retardados, duradouros não só para a eliminação de água e cloretos, como para o poder de concentração, que caiu de 162 do 1.º dia para um mínimo de 7,9 no 6.º dia da experiência, ou seja 4 dias após a 2.ª dose do medicamento.

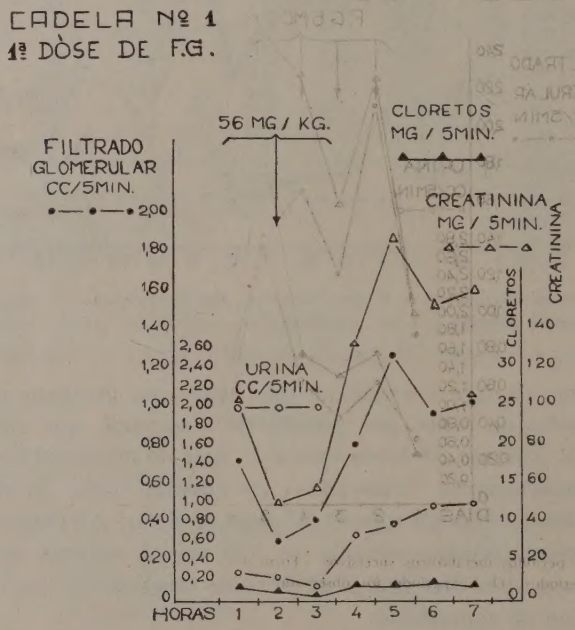


Fig. 2 — Primeiro período metabólico da fig. 1.

Analisando apenas o 1.º período metabólico de 7 horas (fig. 2) temos que, sob a ação de 56 mg. de F.G. /kg., houve um aumento da filtração glomerular, sem aumento proporcional do volume e da excreção de cloretos, para o que deve ter havido aumento da reabsorção tubular de água e cloretos. Com esta grande dose de F.G. na 5.ª hora a eliminação de creatinina foi excessiva em relação ao volume da filtração.

2.ª Experiência — cadela n.º 1 : Observação de 17 a 28-IV-46 (10 períodos metabólicos).

Peso 8,900 kg. Formoguanamina 5 mg. /kg.

Com esta dose, cerca de 10 vezes menor que a anterior, administrada 5 dias seguidos sôbre o mesmo animal (fig. 3) houve queda progressiva do valôr da filtração, de 213 cc./5 minutos com a 1.ª dose, para um mínimo de 54 cc./5 minutos, 24 horas após a 5.ª dose. De modo inverso, o volume de urina aumentou até a 4.ª dose e diminuiu posteriormente. A eliminação dos cloretos oscilou mais proporcionalmente com o volume de urina do que a de creatinina com o valôr da filtração. Aqui também o volume de urina aumentou inicialmente por diminuição da reabsorção tubular, desde que concomitantemente houve diminuição da filtração.

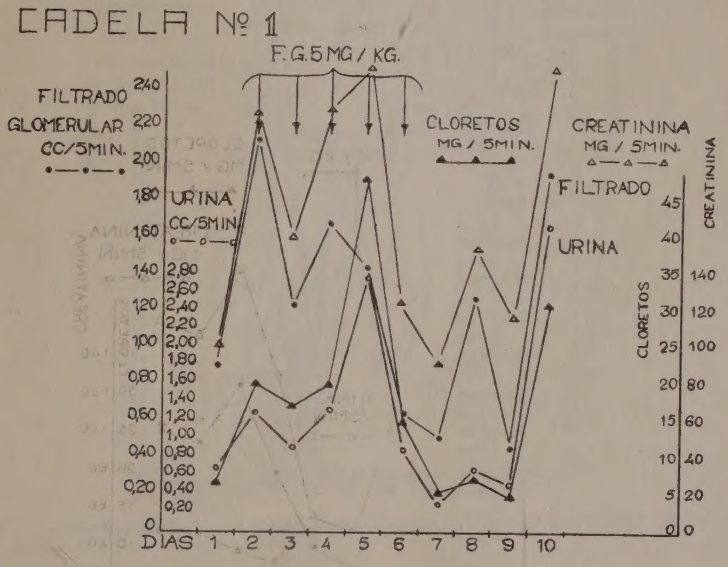


Fig. 3 — 10 períodos metabólicos sucessivos. Formoguanamina — 5 mg./kg. administrados no 2.º, 3.º, 4.º, 5.º e 6.º períodos. O 1.º período foi observado em condições basais.

No último dia da observação (fig. 3), nota-se que houve um aumento da função renal traduzida por elevação dos valores computados, como conseqüência dos rins terem deixado de sofrer a ação depressiva do medicamento, tendo havido aumento do volume do filtrado e da urina, bem como do teor de creatinina e de cloretos. Analisando o 1.º período metabólico (fig. 4) observa-se pequena influência da primeira dose de 5 mg. de F.G. /kg., sôbre os valores médios da filtração glomerular, do volume urinário, e da eliminação de cloretos e de creatinina.

Com esta dose houve aumento de ácido úrico na urina com diminuição de seu teor no sangue no qual, de 3,5 mg.% caiu progressivamente a 2,1 mg.% com a última dose de F.G., para depois se elevar a 3,2 mg.% no 10.º dia da observação. As oscilações de creatinina no plasma foram pequenas, de modo que nesta experiência, o cálculo do filtrado glomerular é mais exa-

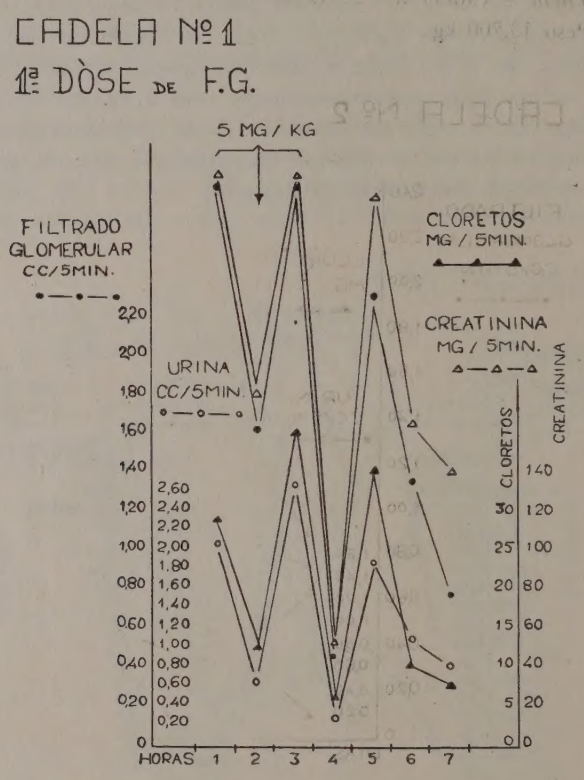


Fig. 4 — 2.º período da fig. 3, sob a ação de 5 mg./kg. de formoguanamina.

to que na anterior. Nesta experiência o filtrado manteve-se com as 4 primeiras doses acima de 100 cc./5 minutos entre 213 e 143 cc./5 minutos enquanto que com 56 mg. /kg. o filtrado caiu de 90 cc. para cerca de 10 cc./5 minutos (fig. 1). Houve também paralelo aumento da excreção de creatinina que chegou a 2,90 mg. /5 minutos, quando a média fisiológica no cão é de cerca de 1 mg. /5 minutos. Como o valôr da filtração fisiológica para este cão era de cerca de 80 cc./5 minutos, houve notável aumento da filtração com estas doses.

O poder de concentração caiu de 164 sob a ação da 1.ª dose para 51 com a 4.ª dose (fig. 3). Apesar do aumento da eliminação de cloretos que chegou a 45,81 mg. /5 minutos com a 4.ª dose, sua concentração no sangue au-

mentou. Com esta dose de F.G. a creatinina se elevou no sangue apenas de 1,2 para um máximo de 2,7 mg.% com a 4.ª dose.

Nesta experiência, no início de cada período metabólico, parecia haver ação diurética retardada da dose anterior de F.G., porque a média de volume urinário nas primeiras horas era mais elevada do que nas posteriores.

3.ª Experiência — cadela n.º 2: Observação de 6 a 11-VI-46 (5 períodos metabólicos). Peso 13,700 kg.

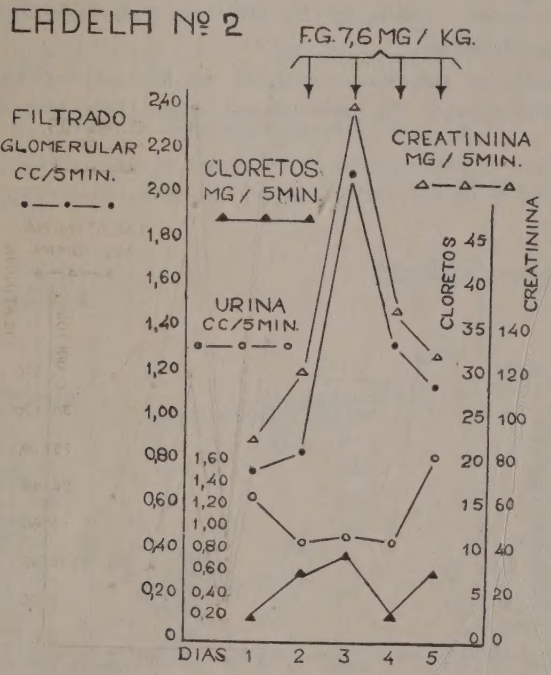


Fig. 5 — 5 períodos observados sob a ação de 7,6 mg./kg. de formoguanamina, com exceção do 1.º no qual o animal se achava em condições basais.

Formoguanamina na dose de 7,6 mg./kg. produziu nesta cadela, notável aumento da filtração glomerular de plasma e de creatinina, sem aumento concomitante da eliminação da urina e de cloretos, tendo havido portanto um paralelo aumento de reabsorção tubular. Si houvesse sido feita apenas a medida do volume urinário, poderia parecer que estas doses não tiveram nenhum efeito sôbre a função renal, quando no entanto estas foram intensas, si bem que antagônicas (fig. 5).

Com a 2.ª dose de F.G., o volume da filtração /5 minutos atingiu a cerca de 3 vezes o inicial, ou seja 216 cc./5 minutos. Houve também estímulo do tubo contornado e conseqüente aumento da reabsorção de água e de cloretos

o que resulta possivelmente da ação do hormônio antidiurético do lobo posterior da hipófise, cuja secreção deve ter sido estimulada pela ação da formoguanamina, como veremos na discussão geral.

Com estas doses não houve notável alteração das concentrações de cloretos, creatinina e ácido úrico no sangue. A excreção de creatinina acompanhou o teor da filtração glomerular . O poder de concentração que era de 102 sob a ação da 1.ª dose, atingiu a 225 com a 2.ª e caiu a 70 com a 4.ª dose. Somente com esta dose foi que se esboçou uma pequena ação diurética.

4.ª Experiência — cadela n.º 3 : Observação de 28-V-46 (5 períodos metabólicos) Peso 16,900 kg.

Nesta, como na experiência anterior, foi feita uma primeira prova controle, sem administração do medicamento, como observação da função renal

CADELA Nº 3

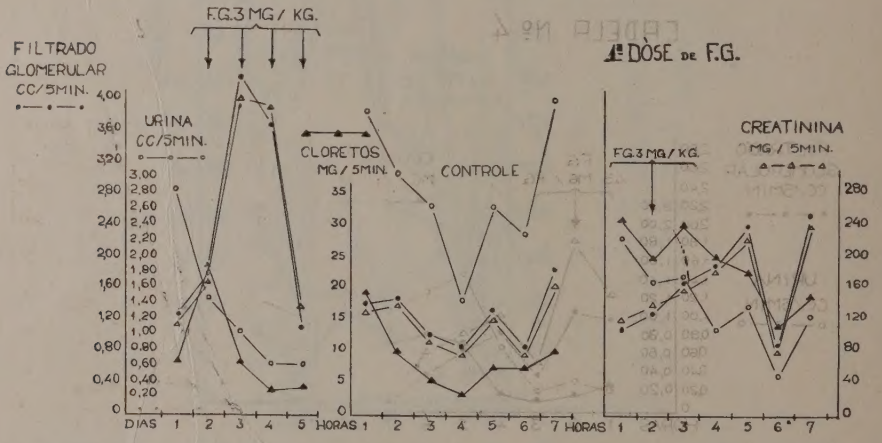


Fig. 6 — 5 períodos metabólicos sob a ação de 3 mg./kg. de formoguanamina, sendo que o primeiro em condições basais.

durante 7 horas metabólicas. Pela fig. 6 observa-se que o filtrado, que nesta cadela em condições basais, foi em média de 122 cc./5 minutos, sob a ação da 2.ª dose de 3 mg. de F.G. /kg. atingiu a 437 cc./5 minutos para depois cair aos valores iniciais com a 4.ª dose.

Houve aqui variações paralelas do valor da filtração e da eliminação de creatinina de um lado e do volume de urina e da eliminação de cloretos de outro. A secreção de hormônio anti-diurético deve ter sido maior que na experiência anterior, porque uma grande massa d'água foi reabsorvida para que o volume urinário tivesse baixado progressivamente, apesar do grande aumento de filtração.

Já com a 1.ª dose de F.G. (3.º traçado da fig. 6) observa-se, no 1.º período metabólico, que houve aumento da filtração e da eliminação de creatinina ao lado da diminuição do volume de urina, o que só pode ter sido conseqüência do aumento de reabsorção tubular de água, por aumento de secreção de hormônio antidiurético, como na experiência anterior.

Esta dose teve assim efeito antidiurético. O poder de concentração dos rins de 46 atingiu a 589, com a 3.ª dose, observando-se que com a 4.ª dose também diminuiu o valor da filtração.

No sangue não houve alterações sensiveis na concentração de cloretos, creatinina e ácido úrico.

5.ª *Experiência* — cadela n.º 4: Observação de 8-V-46 (1 período metabólico).

Peso 8,900 kg. Dose de Formoguanamina 45 mg./kg.

Nesta experiência que se segue foi observado apenas o efeito de dose única de formoguanamina sôbre um período metabólico de 7 horas.

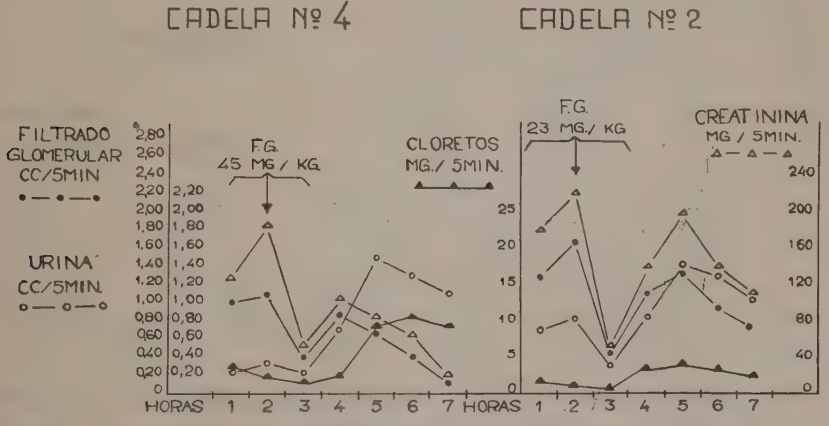


Fig. 7 — 1.º traçado: ação de 45 mg./kg. de formoguanamina; 2.º traçado: ação de 23 mg./kg. de formoguanamina.

Pela fig. 7 nota-se que 45 mg. de F.G. /kg. produziram uma queda progressiva da filtração, e da eliminação de creatinina com aumento do volume urinário e da excreção de cloretos. O poder de concentração caiu de 600 na 2.ª hora para 5 na 7.ª hora. Houve assim, diminuição de reabsorção do filtrado glomerular, o qual de 116 cc. na 2.ª hora, chegou a 5cc./5 minutos na 7.ª hora. Houve assim evidente ação diurética.

6.ª *Experiência* — cadela n.º 2: Observação de 10-V-46 (1 período metabólico).

Peso 11,700 kg. Dose de F.G: 23 mg./kg.

Com esta dose (fig. 7) houve também queda do valor da filtração com elevação do volume urinário. A excreção de cloretos foi pouco influenciada. A ação diurética com 23 mg. de F.G./kg. foi semelhante a produzida por 45 mg./kg.

7.ª Experiência — cadela n.º 3: Observação de 12-V-46 (1 período metabólico).

Peso 19,700 kg. Dose de Formoguanamina 20 mg./kg.

Nesta experiência houve ainda notável aumento seguido de diminuição de filtração glomerular e da eliminação de creatinina, com inicial queda do

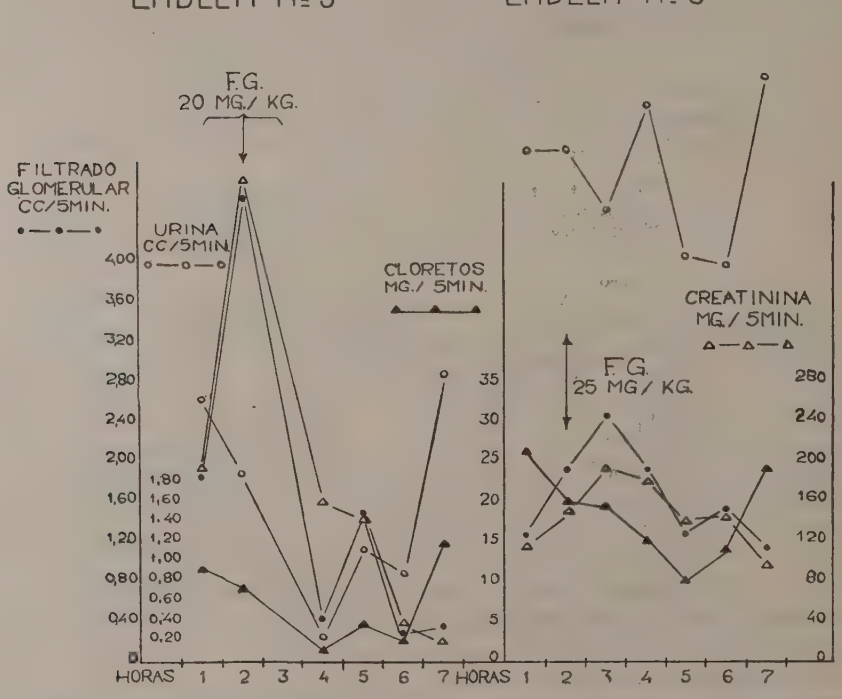


Fig. 8 — 1.º traçado: ação de 20 mg./kg. de formoguanamina; 2.º traçado: ação de 25 mg./kg. de formoguanamina.

volume urinário até 2 horas após a administração do medicamento, seguido de volta deste volume a cerca do teor inicial, na 7.ª hora (fig. 8). O poder de concentração que era de 71 antes do medicamento atingiu a 250 na 1.ª hora quando apareceu o efeito diurético.

8.ª Experiência — cadela n.º 3: Observação de 20-VI-46 (1 período metabólico).

Peso 19,800 kg. Dose de Formoguanamina 25 mg./kg.

Pela fig. 8 vê-se que esta dose apesar de maior que a anterior menor influência teve sôbre a função renal. Houve aumento pouco notável da filtração, menor do que a da experiência anterior, realizada sôbre o mesmo animal. Pouca ou nenhuma ação foi observada sôbre o volume urinário.

9.ª Experiência — cadela n.º 1: Observação de 8-VIII-46 (8 períodos metabólicos).

Peso 8,900 kg. Dose de formoguanamina 1 mg./kg.

Foi administrada a dose de 1 mg. de F.G. /kg. durante 8 dias seguidos, para a observação, não só de seu efeito sôbre a função renal, como também na interferência de 0,2 mg. de ioimbina /kg. administradas em dois dias seguidos,

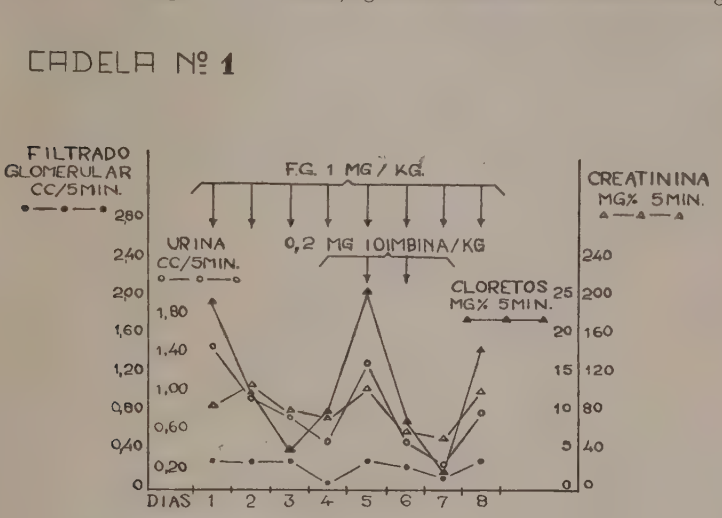


Fig. 9 — 8 períodos metabólicos sucessivos, de 7 horas cada um, sob a ação de 1 mg./kg. de formoguanamina, sendo que dois deles, o 5.º e o 6.º, também sob a ação de 0,2 mg./kg. de ioimbina.

sôbre seus efeitos renais. Com esta dose de F.G. o valor da filtração manteve-se baixo, tendo havido diminuição do volume de urina e da eliminação de cloretos cujos valores se elevaram sob a ação da 1.ª. dose de ioimbina, para novamente cairem ainda sob a ação da 2.ª dose. A ação de ioimbina foi mais notável sôbre a eliminação de cloretos e de água cujos teores foram aumentados passageiramente, e que foi conseqüência da diminuição da reabsorção tubular de água e cloretos, desde que a filtração permaneceu pràticamente a mesma (fig. 9).

10.ª Experiência — cadela n.º 2: Observação de 8-VIII-46 (8 períodos metabólicos).

Peso 8,700 kg. Dose de Teobromina 1 mg./kg.

Esta experiência (fig. 10) foi feita concomitantemente com a anterior, colocando-se os 2 animais em 2 goteiras próximas, nas mesmas condições me-

tabólicas. Observa-se que a teobromina como a formoguanamina na dose de 1 mg. /kg. não influe sôbre a filtração, elevando porém, inicialmente, o volume urinário que já sob a ação da 2.ª dose começa a diminuir progressivamente. Nesta experiência como na anterior, houve ação mais intensa sôbre a eliminação dos cloretos que sôbre a da urina. Aqui também a ioimbina provocou uma elevação passageira na eliminação de cloretos.

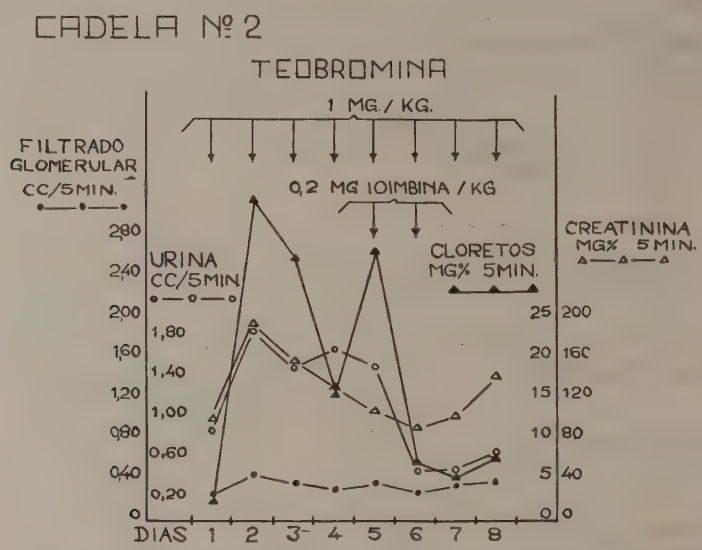


Fig. 10 — 8 períodos metabólicos sucessivos, sob a ação de 1 mg./kg. de teobromina, sendo que dois deles, o 5.º e o 6.º também sob a ação de 0,2 mg./kg. de ioimbina.

Com a 2.ª dose de ioimbina parece ter havido aumento de reabsorção de cloretos.

Da observação das duas experiências, a 9.ª e a 10.ª, conclui-se que a ioimbina tem uma ação seletiva sôbre a reabsorção tubular de cloretos, e menos intensa de água no caso de sua associação à F.G.. Esta ação seria antagônica à de pequenas doses de teobromina e de F.G.

11.ª Experiência — cadela n.º 2: Observação de 18-VII-46 a 29-VII-46 (10 períodos metabólicos).

Peso 11,700 kg. Dose de Teobromina 20 mg./kg.

Após a observação de 1 período metabólico de 7 horas sem a administração do medicamento, este foi administrado cinco dias seguidos, continuando a observação para contrôle dos efeitos posteriores.

Pelo exame da fig. 11, nota-se que esta dose tem efeito depressivo sôbre a função renal do cão, diminuição do volume urinário, da filtração, da excreção de cloretos e de creatinina, havendo recuperação de 2-3 dias após a

última dose de teobromina. Com esta dose a teobromina é antidiurético sôbre o cão por diminuição da filtração e aumento da reabsorção tubular. Estes efeitos são mais notáveis pelo exame do gráfico da ação da 1.ª dose.

CADELA Nº 2

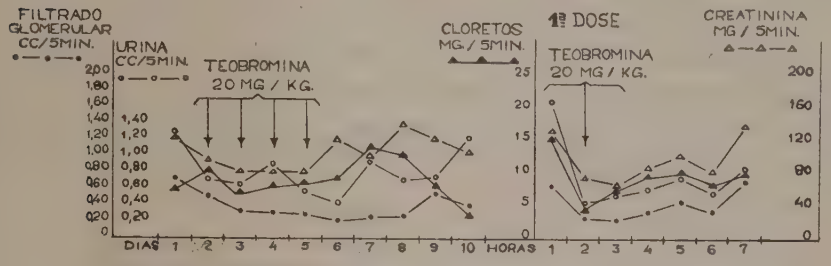


Fig. 11 — 10 períodos metabólicos sucessivos, com administração de 20 mg./kg. de teobromina, no 2.º, 3.º, 4.º e 5.º períodos, ficando o 1.º como controle. No 2.º gráfico vemos o efeito da 1.ª dose.

12.ª Experiência — cadela n.º 4: Observação de 13-VII-46 (2 períodos metabólicos) Peso 9 kg.

CADELA Nº 4

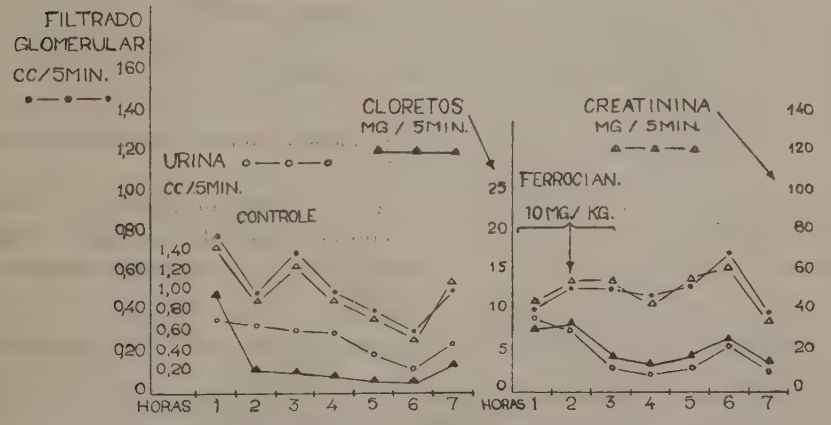


Fig. 12 — 2 períodos metabólicos sucessivos, o 1.º em condições basais e o 2.º sob a ação de 10 mg./kg. de ferrocianureto de potássio.

Como na anterior, nesta experiência também foi inicialmente observado um período metabólico de 7 horas como contrôle, sendo administrada a dose de 10 mg. /kg. de ferrocianureto de potássio no 2.º período metabólico observado.

Pela fig. 12, de um período metabólico apenas, nota-se que sob a ação desta dose de ferrocianureto houve aumento da filtração glomerular de plasma que acompanha de perto o da eliminação de creatinina.

Como o volume de urina e o valor da eliminação dos cloretos diminuiram, houve aumento da reabsorção de água e de cloretos, e portanto ação diurética, efeitos estes semelhantes aos produzidos por pequenas doses de formoguanamina.

13.ª Experiência — cadela n.º 3: Observação de 29-VII a 7-VII-46 (7 períodos metabólicos). Peso 19,00 kg.

O cianureto de potássio administrado em cápsulas gelatinosas na dose de 10 mg. /kg., produziu uma diminuição progressiva do volume de urina e

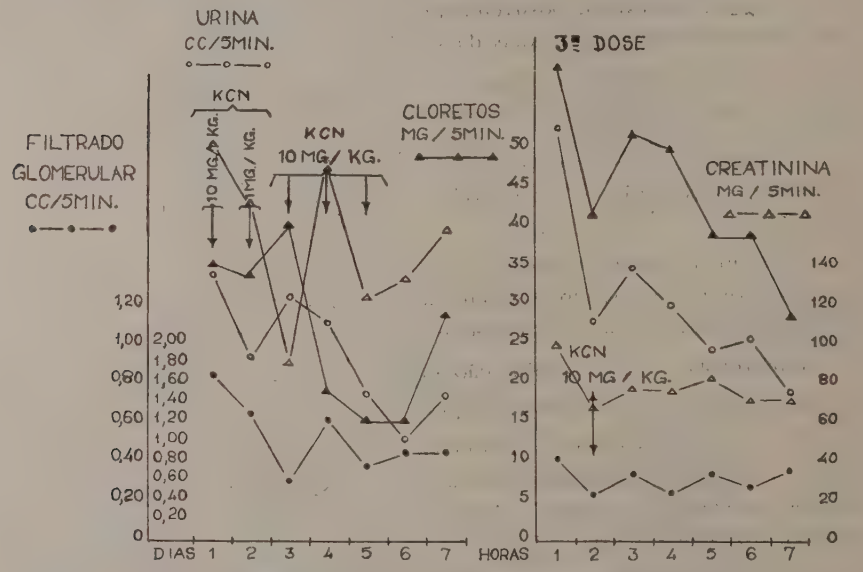


Fig. 13 — 7 períodos metabólicos, sendo que os 5 primeiros sob a ação de K.CN. No 2.º traçado vemos o efeito de 10 mg./kg. de K.CN.

do teôr de excreção de cloretos, havendo deste modo uma ação antidiurética. Menor foi a influência sôbre o valor da filtração glomerular.

A excreção de ácido úrico mg. /5 minutos caiu de 0,39 do primeiro dia para 0,10 sob a ação da 5.ª dose, se elevando para 0,20 já no dia seguinte quando o medicamento não foi administrado. Na fig. 13 observa-se no traçado correspondente aos efeitos da 3.ª dose, que houve efeito antidiurético, devido a maior reabsorção tubular de água e cloretos, não havendo sensivel influência sôbre a filtração glomerular e o teor de creatinina. Este efeito anti-

diurético foi observado, por vezes, com altas doses de formoguanamina. No 6.º e 7.º dias de observação nos quais o KCN não foi administrado a diurese ainda se manteve baixa.

14.ª Experiência — cadela n.º 3: Observação de 6 períodos metabólicos (19 a 24-VIII-46).

Peso 19,599 kg. Dose de Cianureto de potássio 6 mg./kg. de 2/2 horas.

Como o cianureto de potássio na dose de 10 mg./kg. mostrou ação antidiurética, repetimos a prova no mesmo animal com 6 mg./kg., administrados em 5 doses de 1 mg./kg., da 2.ª e 7.ª horas. Nesta prova também houve diminuição da filtração e do volume de urina, com tendência ao aumento da eliminação de cloretos e de creatinina. Este último fenômeno observa-se também com a dose de 10 mg./kg.

Nas duas experiências houve discrepância entre o valor da filtração e da eliminação de creatinina, possivelmente por interferência desta substância nos processos metabólicos das células da membrana filtrante.

A fig. 14 mostra as condições funcionais dos rins no 1.º dia da observação, no qual o KCN não foi administrado.

15.ª Experiência — cadela n.º 5: (Com hipertensão arterial, cronica de Goldblatt). Observação de um período metabólico — Dose de Formoguanamina 31 mg./kg.

Esta cadela sofrera compressão da artéria renal esquerda, por meio da pinça de Goldblatt, tendo apresentado imediata hipertensão que, ao invés de voltar ao normal, manteve-se por 6 meses entre 180 e 200 mm. Hg.

A necrópsia, revelou atrofia não muito acentuada do rim esquerdo, com obstrução total da artéria renal e hipertrofia das arteríolas capsulares.

Houve com 31 mg./kg. acentuado aumento da filtração que chegou a 416 cc./5 minutos com diminuição do volume de urina e da quantidade de cloretos excretados /5 minutos. Houve assim, aumento da reabsorção tubular de água e de cloretos (fig. 14).

Neste animal houve acentuado efeito aumentador de duas funções opostas, a de filtração e a de reabsorção O poder de concentração aumentou de 87 para 368 na 6.ª hora. Este efeito aumentado da filtração glomerular possivelmente foi devido ao aumento da pressão de filtração, por espasmo das arteríolas.

16.ª Experiência — cadela n.º 6: (Perinefrite crônica com hipertensão arterial).

Observação de 1 período metabólico de 7 horas. Dose de F.G. 31 mg./kg.

Neste animal foi tentada a produção de hipertensão de Goldblatt, tendo se instalado hipertensão progressiva a partir da operação do 2.º rim, do que resultou ao cabo de meses de hipertensão crônica com hemorragia, descola-

mento da retina e perda da visão de ambos os olhos. A pressão arterial oscilou entre 145 e 220 mm. Hg. por 12 meses. A necrópsia revelou que as pinças não se achavam nas artérias renais e que a hipertensão era devida à perinefrite bilateral crônica.

Com 31 mg./kg. a F.G. neste animal produziu acentuado aumento do volume de urina excretada e de cloretos, sem influência sôbre a filtração e a eliminação de creatinina. Houve assim acentuada ação diurética.

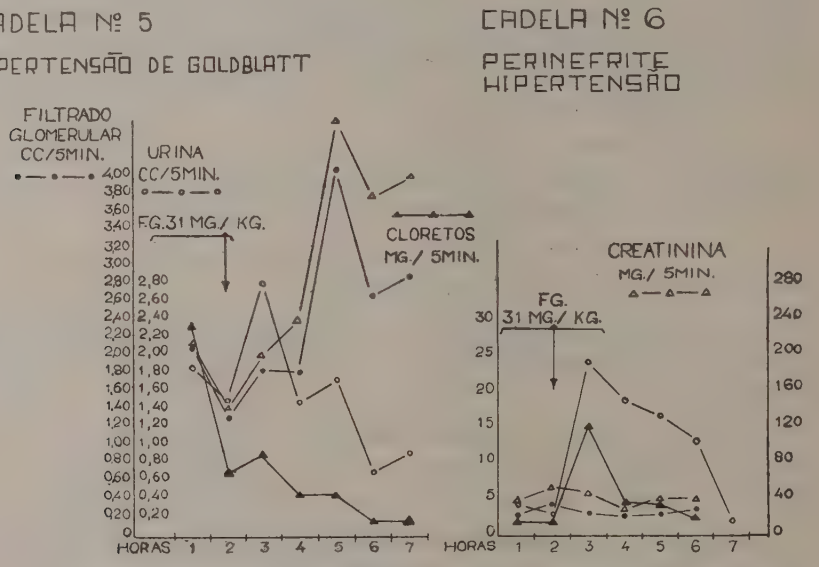


Fig. 14 — Cadela com hipertensão arterial crônica consequente a compressão da artéria renal de um lado, com pinça arterial de Goldblatt; 31 mg./kg. de formoguanamina. Fig. 15 — Cadela com perinefrite bilateral crônica e hipertensão arterial; 31 mg./kg. de formoguanamina.

Enquanto que o animal com hipertensão arterial crônica da experiência anterior sofreu acentuado aumento da filtração renal e também de reabsorção de água e cloretos, a mesma dose de formoguanamina produziu no animal com perinefrite diminuição da reabsorção de água e de cloretos, sem influir sôbre a filtração (fig. 15).

17.ª Experiência — cadela n.º 6. (Perinefrite crônica e hipertensão arterial crônica).

Observação de um período metabólico — Dose de F.G. 54 mg./kg.

Esta cadela foi a mesma da experiência anterior. A formoguanamina com a elevada dose de 54 mg. /kg. produziu diminuição do volume da filtração e da urina excretada bem como do teôr de excreção de cloretos, efeito

semelhante ao produzido por 20 mg. de teobromina e de 10 mg. de KCN /kg. (fig. 16).

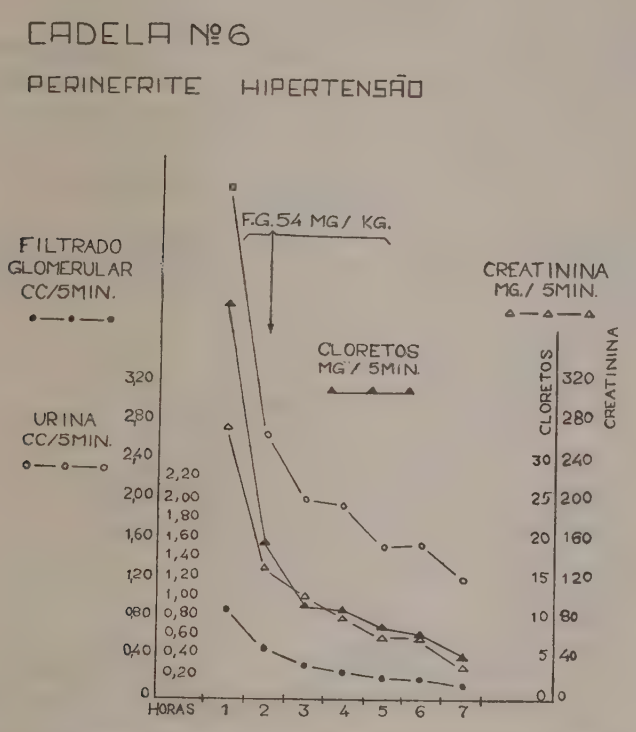


Fig. 16 — Cadela com perinefrite bilateral crônica. 54 mg./kg. de formoguanamina.

Não houve alteração do poder de concentração dos rins.

18.ª Experiência — cadela n.º 7 (sem lobo posterior da hipófise).

Observação de 1 período metabólico — Dose de F.G. 23 mg./kg.

Neste animal foi feita hipofisectomia por via bucal, tendo sido retirado todo o lobo posterior da hipófise, o que poude ser constatado, pelo tamanho, forma e exame histológico. O lobo anterior permaneceu porque esta cadela posteriormente pariu e amamentou os filhotes. Logo em seguida a operação instalou-se diabetes insipidus por vários meses, seguido de oliguria, condição em que foi utilizada.

A formoguanamina na dose de 23 mg./kg. produziu um inicial aumento da filtração glomerular seguido de queda acentuada, ao lado de aumento do volume de urina e da quantidade de cloretos excretados. O poder de concen-

tração dos rins caiu acentuadamente de cerca de 200 na primeira hora para 19 na 7.ª hora (fig. 17).

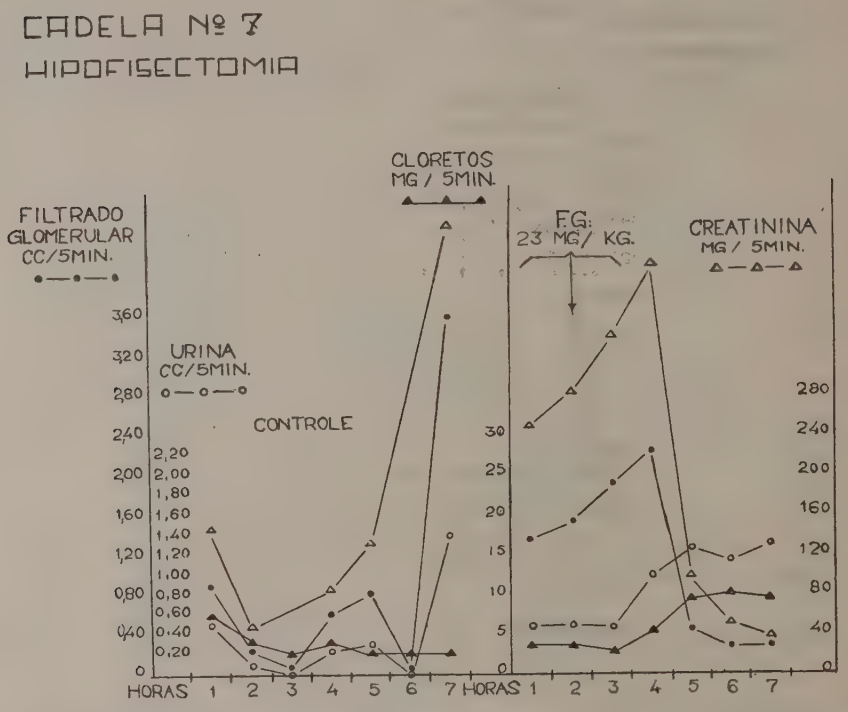


Fig. 17 — Cadela sem o lobo posterior da hipófise, em oligúria. No 1.º traçado vemos a função renal em condições basais e no 2.º traçado a ação de 23 mg./kg. de formoguanamina, durante um período metabólico de 7 horas.

Novamente observamos que com elevadas doses de F.G. quando há aumento da filtração há também aumento da reabsorção, e, pelo contrário, quando o valor da filtração diminue, a reabsorção também é menos intensa.

19.ª Experiência — cadela n.º 7 (sem o lobo posterior da hipófise).

Observação de 11 períodos metabólicos — Dose de F.G. 10 mg./kg. em 8 doses diárias sucessivas (fig. 18).

O mesmo animal da experiência anterior, recebeu 10 mg. de F.G./kg. durante 8 dias sucessivos, do que resultou aumento da filtração glomerular e do volume de urina, aumento este progressivo como se observa na fig. 19. Não houve sensível influência sôbre a eliminação de clorêtos, porém a concentração de ácido úrico do sangue caiu de 4,4 para 2,5 mg.%.

Pelo exame da fig. 19, correspondente ao período metabólico controle e ao imediato sob a ação de 10 mg. de F.G. /kg., nota-se acentuada ação diuré-

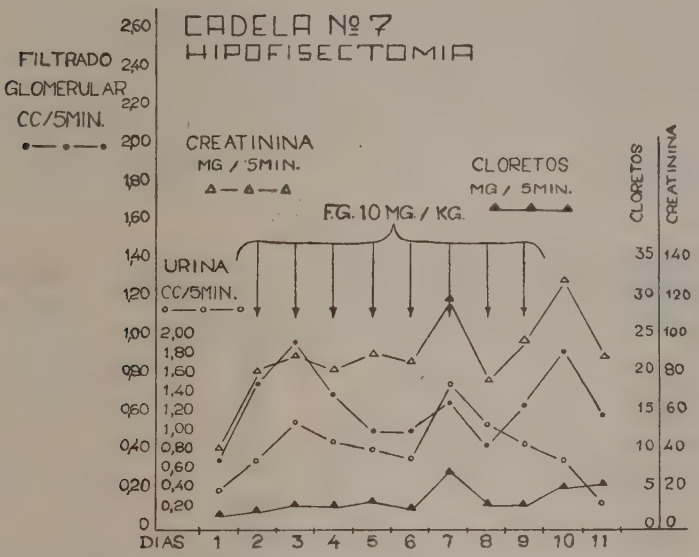


Fig. 18 — Cadela sem o lobo posterior da hipófise, em oligúria, condição em que foi utilizada. 10 mg./kg. de formoguanamina foram administrados do 2.º ao 9.º período dos 11 períodos observados.

tica, com aumento da filtração e mais acentuado volume de urina excretada

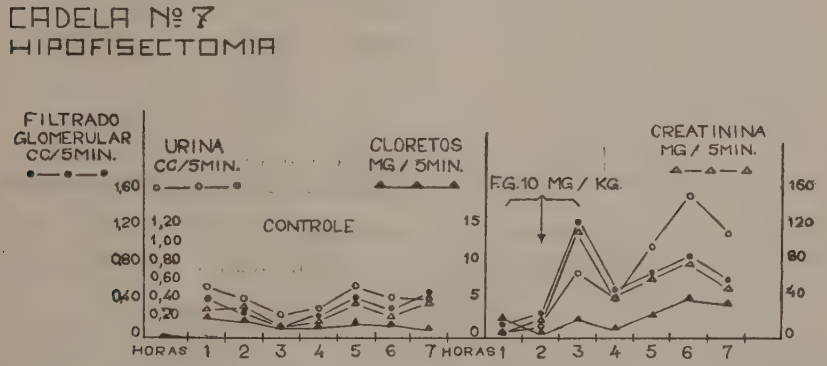


Fig. 19 — Cadela sem o lobo posterior da hipófise. Um período metabólico em condições basais e outro sob a ação de 10 mg./kg. de formoguanamina.

sem influência sôbre o teôr de excreção de cloretos, ações semelhantes às produzidas por 23 mg. de F.G./kg. da experiência anterior.

20.ª Experiência — cadela n.º 3 : (Insuficiência cardíaca congestiva):

Observação de 11 períodos metabólicos de 29-I a 10-II-47 — Dose de Formoguanamina 1 kg.

Esta cadela, que serviu para várias experiências, era portadora de moléstia de Chagas crônica, e apresentou ao cabo de muitos meses, insuficiência cardíaca congestiva com anasarca. O electrocardiograma revelou alteração da condução, bloqueio do ramo direito do feixe de Hiss, que possìvelmente foi a causa da insuficiência. A autopsia feita posteriormente, mostrou haver integridade renal.

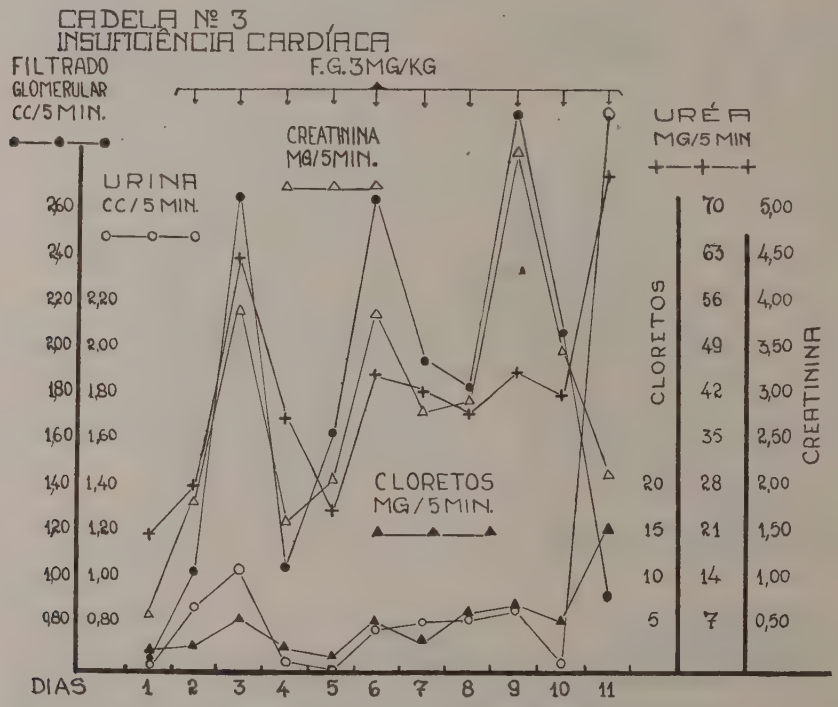


Fig. 20 — Cadela com insuficiência cardíaca descompensada, consequente à moléstia de Chagas. 11 períodos metabólicos, sendo que apenas o primeiro foi observado em condições basais e os outros 10 sob a ação de 3 mg./kg. de formoguanamina.

A fig. 20 revela ter havido um progressivo e acentuado aumento da filtração glomerular, o qual foi acompanhado de aumento da eliminação de uréa. Não houve porém aumento do volume de urina e da excreção de clorêtos /5 minutos.

No último dia da observação (fig. 20), houve diminuição da filtração e aumento da eliminação de urina, isto é, diminuição da reabsorção tubular.

Observa-se também o aumento da eliminação de uréa. O volume de urina que foi de 0,40 cc./5 minutos no 1.º dia, atingiu a 3,01 cc./5 minutos no 11.º dia.

A eliminação de uréa de 23,49 g. no 1.º dia atingiu a 75,01 mg./5 minutos no 11.º dia. Neste último dia foi observada a maior intensidade de ação. Nota-se no traçado que após uma ação inibidora da diurese, aumentou não só a

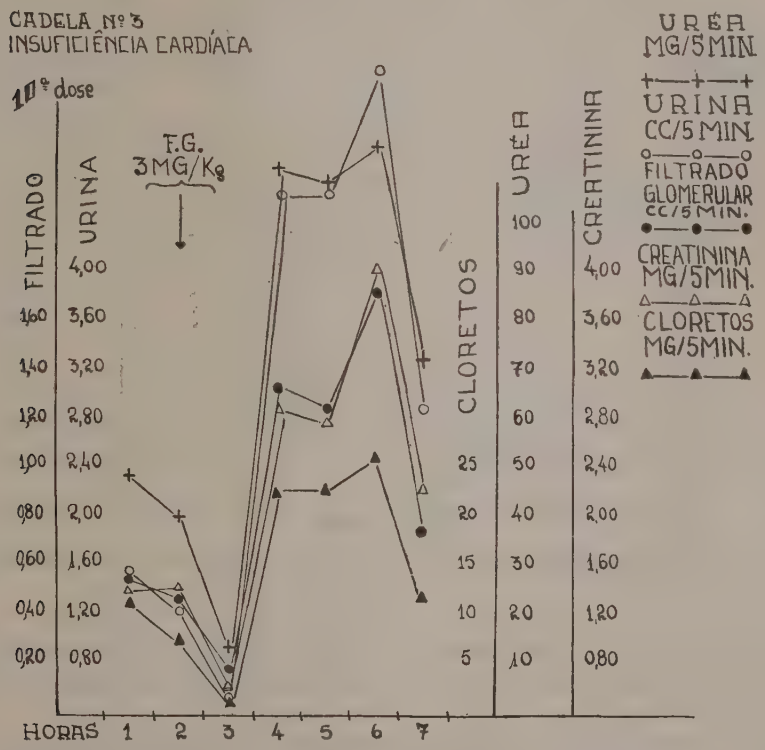


Fig. 21 — Cadela com insuficiência cardíaca descompensada. 3.º período metabólico sob a ação de 3 mg./kg. de formoguanamina.

filtração, mas também a eliminação de urina que de 0,58 cc. da 3.ª hora atingiu a 5,33cc./5 minutos na 6.ª hora. A eliminação de uréa aumentou de 14,0 g. da 3.ª hora para 122,59 g. na 6.ª hora.

21.ª Experiência — cadela n.º 2

Observação de dois períodos metabólicos, um sob a ação de 60 cc. de água e outro sob a ação de 2727 mg./kg. de uréa dissolvidos em 60 cc. de água.

Nesta experiência, no fim da primeira hora, foram administrados 60 cc. de água por meio de sonda, diretamente no estômago. Nota-se na fig. 22, que

a filtração glomerular /5 minutos, sofreu pouca alteração, tendo no entanto havido uma elevação de 950% na eliminação de urina, sem que houvesse modificação da eliminação de clorêtos, e de creatinina. Este efeito decorre da

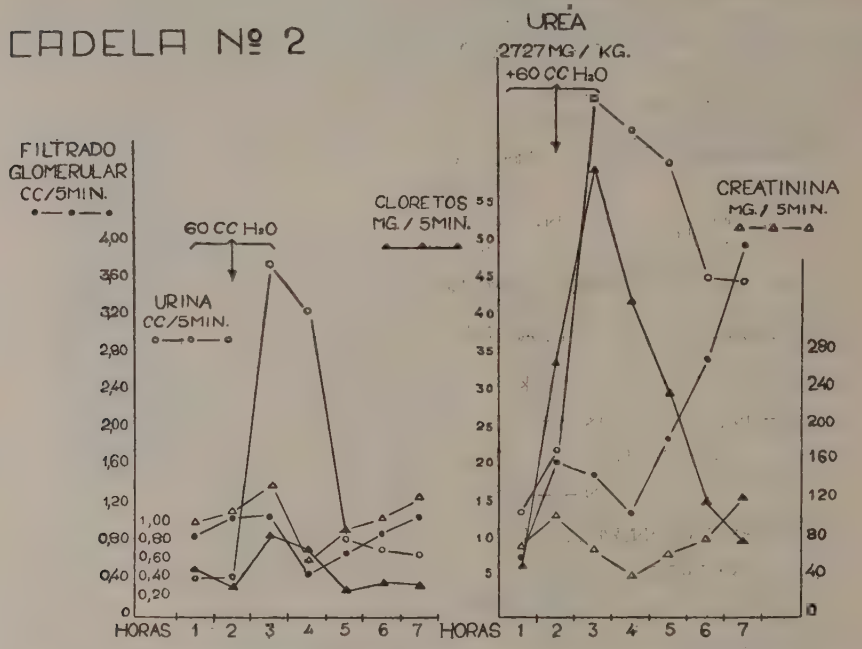


Fig. 22 — Um período metabólico sob a ação de 60 cc. de água. Um período metabólico sob a ação de 2727 mg./kg. de uréia dissolvidos em 60 cc. de água.

ação da água sôbre o lobo posterior da hipófise, por meio da hidremia, com diminuição da secreção de pitressina (20) e conseqüente menor reabsorção de água pelos tubulos.

Neste mesmo animal, alguns dias depois, foi feita a prova diurética com 2727 mg./kg. de uréa, dissolvidos em 60 cc. de água. Houve um aumento (fig. 22), da eliminação de água de 550%, acompanhado de notável elevação da excreção de clorêtos. Da 4.ª hora em diante, apezar da elevação da filtração, houve queda da diurése, a qual foi pouco intensa devido ao grande valor da filtração.

DISCUSSÃO

Na experiência aguda da preparação de coração, pulmão e rins, de STARLING &VERNEY (11) sob a ação do NaCN a M/6, o aumento do volume de urina e da percentagem e quantidades absolutas de cloretos, veio confirmar o fato, já demonstrado por vários autores, de que a asfixia produz uma urina com com-

posição que tende a se igualar à do filtrado (12), do mesmo modo que o cianureto, o qual inibe os processos de oxidação, agindo sôbre a atividade das células dos tubulos, produzindo uma anoxemia. Os diuréticos que inibem a atividade específica de reabsorção tubular, agem de modo semelhante a ano-

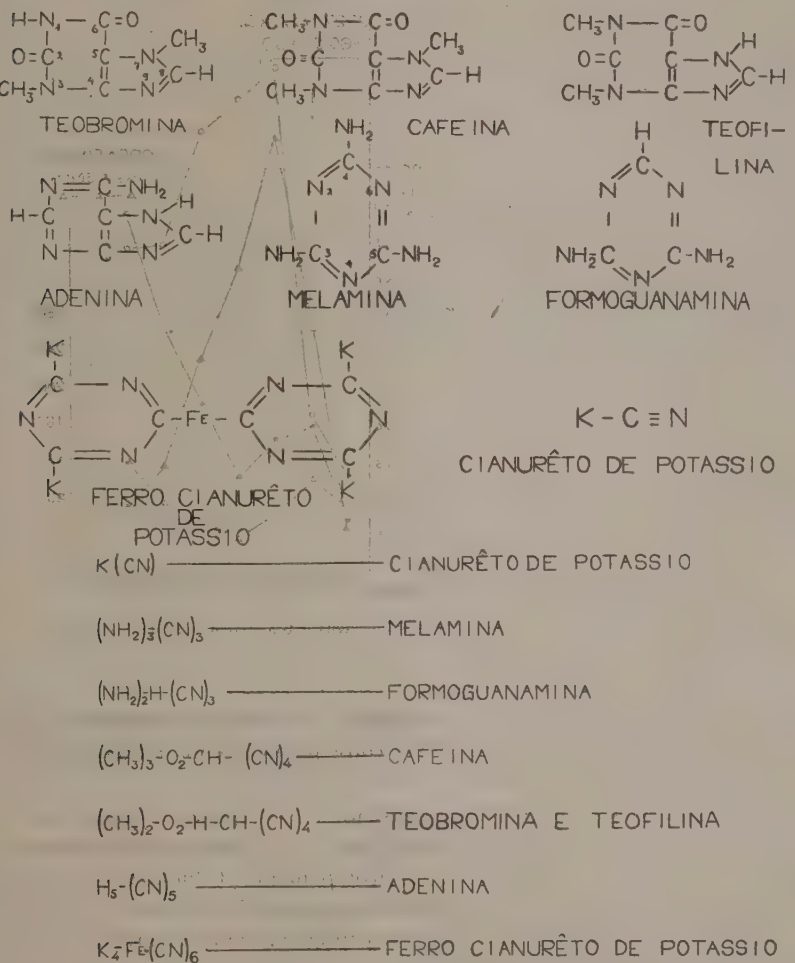


Fig. 23 — Fórmulas de constituição das substâncias químicas estudadas

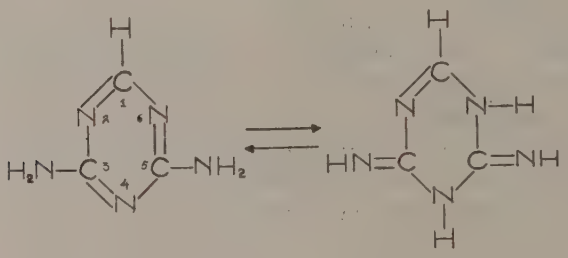
xemia produzida por sangria ou por substituição do sangue pela solução de Ringer.

Em nossas experiências com KCN, as doses não foram suficientemente altas para produzir efeito diurético como na preparação de STARLING & VERNEY, sendo que provàvelmente os 10 mg. de KCN /kg. em sua maior parte foram

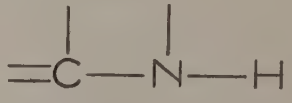
transformados em tiocianatos inativos, o mesmo se dando com a dose de 1 mg./g. administrado de 2/2 horas.

Nos diuréticos como as xantinas, a melamina, a adenina e a formoguanamina (fig. 23) poderiamos admitir a presença do ácido cianídrico em estado potencial não neutralizável sob a forma de tiocianato. Também o hidrogênio ligado a um átomo de azoto poderia ter ação diurética os quais existem na adenina, na teofilina, no átomo de azoto 7, na teobromina no átomo de azoto 1. Na formoguanamina, o carbono possue também um hidrogênio e sua potência diurética é igual a 347, enquanto que o da melamina que não o possue, é igual apenas a 76,5 em relação a uréia como valor diurético igual a 1 (1). Como a teobromina possue apenas o hidrogênio do azoto 7, livre, a mais do que a cafeina e é mais ativa, como diurético, que esta, pode-se admitir que este hidrogênio empresta-lhe também poder diurético.

Para explicar a existência de ação diurética na melamina pode-se admitir a forma tautomérica, sob a qual também pode-se achar a formoguanamina. Sob a forma tautomérica II, esta teria as ações do ácido mais exaltadas.



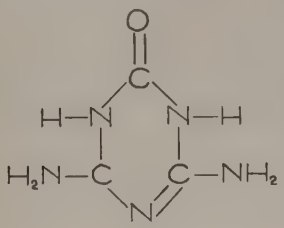
A existência do hidrogênio no carbono 1 da formoguanamina, não existente na melamina, é que lhe empresta maior potência diurética. Neste grupo de substâncias, o radical comum responsável pela ação diurética, seria :



Em concordância com esta hipótese, há o fato de que a anoxia no rato (18) e a formoguanamina bem como a teofilina e os cianurêtos (11) produzem hiperglicemia no cão, o que parece indicar que a anoxia produzida por este radical comum, é a causa destas ações.

Esta estrutura é condição necessária, porém não suficiente, para a produção do efeito diurético. A presença de um radical eletronegativo diminue ou anula a potência diurética, como acontece com as xantinas em relação

com a adenina. O mesmo se dá com a formoguanamina, cuja potência diurética cai de 347 para 0 no seu oxi-derivado (1).



A ação diurética deste grupo de substâncias seria devido a presença em suas estruturas, do ácido cianídrico, em forma estável, o qual age como inibidor dos enzimas respiratórios, deprimindo eletivamente os processos metabólicos das células dos tubos contornados do nefrônio. Esta ação se dá principalmente sôbre o tubo contornado proximal, porque em doses tóxicas, a formoguanamina produz degeneração gorda, pràticamente, só desta porção do nefrônio.

A ação inibidora do ácido cianídrico em estado potencial, contido neste grupo de substâncias agiria sôbre o tubo contornado do nefrônio como a asfixia por sangria ou por substituição do sangue pela solução de Ringer, ou como na preparação do coração, pulmão, rim, com perfusão de líquido nutritivo contendo NaCN a M/6 (11), do mesmo modo que os sêres humanos a grandes altitudes (18.000 pés), apresentam poliúria e aumento de excreção de cloretos, de sódio e de potássio (13) devido a anoxemia.

Como no caso da anoxia (14) que no cão pode produzir oligúria ou poliúria, a formoguanamina também nas mesmas doses, ora produz oligúria, ora poliúria. Esta ação não se faz através da suprarrenal, porque quando os vasos desta glândula são ligados (15), ainda a anoxia pode produzir oligúria, o que já não se observa quando os rins são desnervados. Deste modo pode-se admitir um mecanismo através do sistema nervoso.

Do mesmo modo que a diminuição excessiva do fluxo de sangue ao nível do rim (anoxia), produz o aparecimento de albuminúria passageira, sem alteração visível microscòpicamente do rim (16), também o mesmo fenômeno se observa sob a ação do HCN (11), o qual produz, no fim de algum tempo, diminuição do fluxo de sangue através dos rins, apesar da eliminação de urina se manter a mesma. Cortes do rim nestas condições, mostram glomérulos cheios de sangue em conseqüência de constrição do vaso eferente do glomérulo, o que favorece a filtração (17). Com a formoguanamina, grande dose, produziram nos ratos notável aumento do volume dos glomérulos, cujos vasos se mostram cheios de sangue.

Também a anoxia consequente a baixa pressão barométrica produz no rato um aumento do peso dos rins, acompanhado de hiperemia, e de lesões do parenquima, si esta ação é prolongada (18).

A uma altitude de 25.000 pés, ratos normais mostram poliúria com aumento da excreção de cloretos, o que foi considerado como decorrente do efeito da anoxia, produzindo uma diminuição da capacidade de reabsorção de água e cloretos pelos túbulos (19).

Não há necessidade da admissão da interferência do hormônio anti-diurético para explicar o fato da formoguanamina produzir por vezes no cão (experiências 3.ª, 4.ª e 6.ª) filtração glomerular e da reabsorção tubular, ações produzidas por êste hormônio (20). Em rins perfusados as xantinas produzem aumento do fluxo de sangue e aumento da filtração (21). Si o ácido cianídrico em pequenas doses é estimulante do sistema nervoso central e em grandes doses é depressor (22), pode-se admitir que em pequenas doses a formoguanamina, pelo ácido cianídrico em estado potencial nela contido, seja estimulante do metabolismo das células dos tubos contornados e assim aumente sua função absorvedora. Em grandes doses haveria depressão do metabolismo destas células, podendo com doses tóxicas (300 mg./kg.) produzir degeneração gorda das células do tubo contornado proximal, como já foi referido. Teríamos assim com pequenas doses aumento de fluxo de sangue no glomérulo e por isso aumento de filtração e estímulo do metabolismo das células dos túbulos e aumento da reabsorção. O efeito diurético se daria no caso da dose de formoguanamina ser depressiva do metabolismo destas células, diminuindo a reabsorção, mesmo com diminuição da filtração glomerular o que se observa nas experiências 1.ª, 4.ª e 8.ª.

Si a pitressina não afeta a ação diurética das xantinas da formoguanamina, da melamina, da adenina e da uréa em contraste com a diurese pela água (3) é porque as células tubulares não podem responder ao hormônio por se acharem intoxicadas, deprimidas.

No cão com hipertensão arterial crônica de Goldblatt, a formoguanamina na dose de 31 mg./kg. (experiência 15.ª) aumentou a filtração e a reabsorção, porém a mesma dose em animal com perinefrite (16.ª experiência) não houve aumento da filtração, porém notável efeito diurético, no entanto neste mesmo animal (17.ª experiência) dose maior de formoguanamina (54 mg. /kg) produziu diminuição da filtração e da diurese. Pela observação dos gráficos nestas duas experiências nota-se que quando a diurese era anteriormente baixa, o efeito foi diurético, enquanto que quando era alta o efeito foi anti-diurético.

No animal com insuficiência cardíaca congestiva com anasarca, (20.ª experiência) no qual havia baixa da filtração glomerular pois em condições normais os rins deste animal (4.ª experincia), filtravam em média 1,25 cc. /5 minutos e com insuficiência cardíaca apenas 0,65 cc./5 minutos, a F.G. na dose de 3 mg. /kg., diàriamente durante 10 dias, produziu um aumento progressivo da filtração que atingiu o máximo de 316,48 cc./5 minutos, com a 8.ª dose, tendo havido pequeno aumento do volume de urina. Nesta experiência observa-se acentuado aumento da filtração e da reabsorção, do que resultou pequena diurese. Sòmente no último dia foi que

se observou intensa diurese por diminuição de reabsorção de água, desde que a filtração diminuiu, apesar do que a eliminação de uréa ainda se manteve mais alta do que anteriormente. Houve melhoria de condições metabólicas dos túbulos que aumentaram a sua capacidade de reabsorver água e também aumento da pressão de filtração nos glomérulos. Esta dose foi assim estimulante das duas funções renais antagônicas, porém no último dia, a ação cumulativa produziu o efeito depressor sôbre as duas funções. Possìvelmente a ação aumentadora da filtração foi cardíaca, porque em coração de "rã" perfusado "in situ" a formoguanamina na dose de 0,1 mg. (0,5 mg. /kg.) tem ação estimulante cardíaca, semelhante ao efeito adrenérgico obtido pelo estimulo do vago após a ação da atropina (fig. 24).

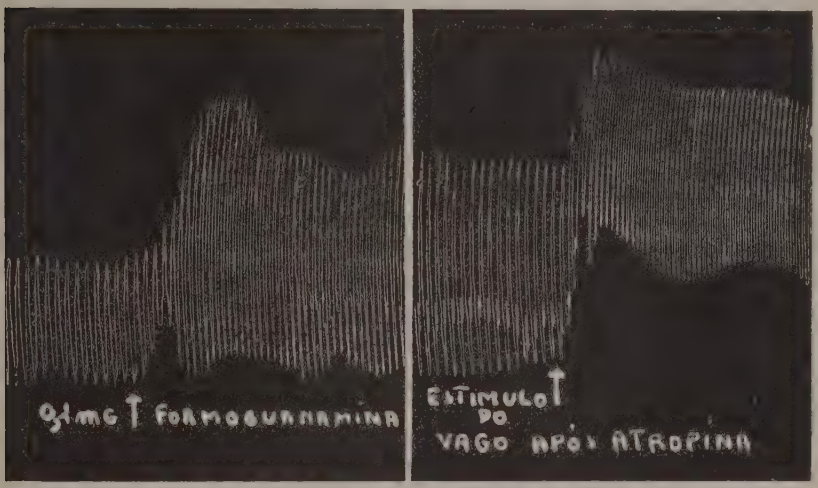


Fig. 24 — Coração de "rã" perfusado "in situ". No primeiro gráfico temos o efeito de 0,1 mg. de formoguanamina injetado no tubo condutor do liquido de Ringer. No 2.º gráfico, temos efeito estimulante, semelhante ao anterior, resultante do estímulo elétrico do vago após a ação bloqueiadora da atropina sôbre a ação muscarínica da acetilcolina, permitindo apenas o efeito adrenérgico.

No cão da experiência 20.ª, cujo pulso era de 150-160 batimentos por minuto, no primeiro período metabólico observado, caiu nos dias seguintes a 90-110 batimentos por minuto o que indica ação restauradora do miocárdio cuja taquicardia era consequente a insuficiência de contração. Por este processo se pode explicar o aumento da filtração glomerular pelo aumento do fluxo de sangue e da velocidade circulatória.

A dose estimulante do miocárdio, aumentaria a pressão arterial e o fluxo de sangue, e, seria também estimulante do metabolismo das células dos túbulos proximais, havendo simultâneo aumento da filtração e da reabsorção de água e cloretos. A dose depressora do miocárdio e dos vasos produzindo vasodilatação e consequente hipotensão e diminuição do fluxo de sangue,

seria também depressora da respiração celular ao nível dos tubulos proximais, resultando diminuição da filtração e da reabsorção.

A dissociação entre a eliminação de uréa e a de cloretos e de água é devido a que os dois primeiros são reabsorvidos principalmente pelo tubo contornado proximal, onde deve agir a formoguanamina enquanto que a uréa difunde passivamente para o plasma e si a velocidade desta difusão permanece a mesma, havendo aumento da filtração de uréa, esta se apresenta em maior concentração e maior quantidade absoluta na urina.

No último dia da observação da 20.ª experiência, a ação diurética se manifestou intensamente apesar da notável queda do valor da filtração e no entanto neste dia foi que se deu a maior eliminação de uréa o que só se pode explicar por uma ação inibidora de sua difusão através das células dos túbulos.

CONCLUSÕES

I — A formoguanamina, a adenina, a melamina bem como as xantinas, devem sua ação diurética ao radical $=\overset{|}{C}-\overset{|}{N}-H$ existente em suas estruturas.

II — Este radical possue, em estado potencial, a atividade do ácido cianídrico, o qual é responsável pela ação diurética deste grupo de substâncias.

III — A ação diurética da formoguanamina é resultante da inibição da reabsorção tubular.

IV — Ação diurética à destas substâncias pode ser produzida pela anoxia resultante da anoxemia por sangria ou por substituição do sangue pela solução de Ringer, pela ação do H.CN e da baixa pressão barométrica.

V — Como no caso da anoxia anóxica, pode-se também com a formoguanamina (anoxia histiotóxica), observar oligúria ou poliúria.

VI — A formoguanamina produz aumento do volume de urina e da quantidade relativa e absoluta de cloretos e de uréa.

VII — Na insuficiência cardíaca congestiva, a formoguanamina na dose de 3 mg./kg. produziu no cão, ação antidiurética, resultante do aumento da reabsorção tubular, apezar do notável aumento da filtração glomerular do plasma.

VIII — Quando ha ação antidiurética, esta resulta do estímulo das células dos túbulos, desde que o valor da filtração glomerular se mostra também aumentado.

IX — Si a pitressina não influe sôbre a ação diurética da formoguanamina, das xantinas, da adenina e da melamina (3), é porque aquela estimula o metabolismo das células dos túbulos, o que não se efetua quando estas se acham inibidas por um destes diuréticos, enquanto que aquele hormônio da hipófise inibe a diurése produzida pela água.

X — A formoguanamina aumenta a eliminação de ácido úrico.

SUMÁRIO

Foi feito o estudo da ação diurética da formoguanamina em cães normais, em cães com perinefrite experimental, com hipertensão arterial de Goldblatt, sem o lobo posterior da hipófise e com insuficiência cardíaca congestiva. O medicamento foi administrado por via oral, em cápsulas gelatinosas, a cães em jejum de 18 horas. A urina foi colhida por meio de sonda uretral, durante um período metabólico de 7 horas, e por vezes durante vários períodos metabólicos sucessivos. Algumas vezes foi observada a função renal em condições basais, durante um período metabólico de 7 horas. O sangue foi retirado durante a primeira hora, no fim da qual foi administrado o medicamento, a segunda colheita sendo feita no fim da sexta hora. O teor da filtração glomerular de plasma, foi calculado em função da creatinina endógena pelo método de Rehberg. No sangue foram dosados, antes e depois da administração do medicamento, cloretos, ácido úrico, creatinina e uréa. Na urina em cada porção eliminada durante uma hora, foram dosados cloretos, creatinina, ácido úrico e uréa, e calculada sua eliminação por 5 minutos, bem como o volume de urina e de filtrado glomerular pelo mesmo período.

Do estudo comparativo da estrutura química da formoguanamina, da adenina, da melamina e das xantinas, verificou-se a existência de um radical comum, que seria o responsável pela ação diurética deste grupo de substâncias.

CONCLUSIONS

1. Formoguanamine, adenine and melamine as well the xanthines owe their diuretic action to the $=\overset{|}{C}-\overset{|}{N}-H$ radical in their structure.

2. This radical possesses, potientially, the activity of hydrocyanic acid which is responsible for the diuretic action of this group of substances.

3. The diuretic action of formoguanamine is due to inhibition of tubular reabsorption.

4. The diuretic action of these substances may be produced by anoxia due to the anoxemia of bleeding, or by the substitution of the blood by Ringer's solution, by the action of H.CN and low barometric pressure.

5. As in the case of anoxic anoxia, oliguria or polyuria can also be observed with formoguanamine (anoxia histiotoxica).

6. Formoguanamine produced increase of the volume of urine and of the relative and absolute amounts of chlorides and urea.

7. In congestive cardiac insufficiency, formoguanamine in doses of 3 mg./kg. produced in dogs an antidiuretic action due to the increase of tubular reabsorption in spite of the marked increase of glomerular filtration of the plasma.

8. When there occurs an antidiuretic action, this is due to stimulation of the tube cells seeing that glomerular filtration is also increased.

9. Pitressine has no influence on the diuretic action of formoguanamine, xanthines, adenine or melamine (3) because Pitressine stimulates metabolism of the tube cells. This stimulation does not take place when the cells are inhibited by one of these diuretics while the above-mentioned hormone of the hypophysis inhibits the diuresis produced by water.

10. Formoguanamine increase the elimination of uric acid.

SUMMARY

A study was made of the diuretic action of formoguanamine in normal dogs, in dogs suffering from experimental perinephritis, dogs with Goldblatt's arterial hypertension, dog without the posterior lobe of the hypophysis and other with congestive cardiac insufficiency. The drug was administered by the mouth in gelatine capsules to dogs which had fasted for 18 hours. The urine was drawn off by a urethral catheter during a metabolic period of 7 hours and sometimes during various successives metabolic periods. At times the renal function in basal conditions was observed during a metabolic period of 7 hours. The blood was drawn off during the first hour at the end of which the drug was administered, the second collection being made at the end of the sixth hour. The rate of glomerular filtration of the plasma was calculated, by Rehberg's method, according to the endogenous creatinin. Before and after the drug was given the amount of chlorides, uric acid, creatinin and urea was determined. On each fraction of urine eliminated during one hour, the chlorides, creatinin, uric acid and urea were determined and their elimination during 5 minutes was calculated as well as the volume of urine and of glomerular filtrate during the same periode.

From a comparative study of the chemical structure of formoguanamine, adenine, melamine and the xanthines there was discovered the existence of a common radical which seems to be responsible for the diuretic action of this group of substances, whose action is similar to that of hydrocyanic acid.

BIBLIOGRAFIA

1. Lipschitz, W. L. & Hadidian, Z., 1944, Amides, amines and related compounds as diuretic. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 81 : 84-94.

2. Lipschitz, W. L., Hadidian, Z. & Kerpcsar, A., 1943, Bioassay of diuretics. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 79 : 97-110.

3. Lipschitz, W. L. & Stokey, E., 1945, The mode of action of three new diuretics : melamine, adenine and formoguanamine. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 83 : 235-249.

4. Jackson, D. E., 1939, *Experimental Pharmacology*, 2nd ed. (*cf.* p. 607).

5. Hawk, B. P. & Bergeim, O., 1937, *Practical Physiological Chemistry*, 2nd ed. (*cf.* pp. 768, 723, 720, 431).

6. Koch, C. F. & Hank, E. M., 1943, *Practical Methods in Biochemistry* (*cf.* p. 194).

7. Faciolo, J. C., 1939, *Hipertensión arterial nefrógena. Estudio experimental.* Tesis Fac. Med., Buenos Aires.

8. Best, C. H. & Taylor, N. B., 1945, *The Physiological Basis of Medical Practice,* 4th ed., (*cf.* p. 386).

9. Steinitz, K. & Turkand, H., 1940, The determination of the glomerular filtration by the endogenous creatinine clearence. *J. Clin. Inv.,* 19 : 285-289.

10. Rehberg, P. B., 1926, Lx-Studies on kidney function. I. The rate of filtration and reabsorption in the human kidney. *Biochem. J.,* 20 : 447-460.

11. Starling, E. N. & Verney, E. B., 1925, The secretion of urine as studies on the isolated kidney. *Proc. R. Soc.,* B 97 : 321-363.

12. Marshall Jr., E. K. & Crane, M. M., 1923, Influence of temporary closure of renal artery on amount and composition of urine. *Amer. J. Physiol.,* 64 : 387-403.

13. Burrill, M. W., Freeman, S. & Ivy, A. C., 1945, Sodium, potassium and chloride excretion of human subjects exposed to a stimulated altitude of eighteen thousand feet. *J. Biol. Chem.,* 157 : 297-302.

14. Thoth, L. A., 1937, Urine formation under anoxia in dogs. *Amer. J. Physiol.,* 119 : 127-139.

15. Thoth, L. A., 1940, Urine excretion during anoxia from normal and denervated kidneys in dogs with and without adrenal glands. *Amer. J. Physiol.,* 129 : 523-538.

16. Starr Jr., I., 1926, Production of albuminuria by renal vasoconstriction in animals and man. *J. exp. Med.,* 43 : 31-51.

17. Beck, L. V., Kempton, R. T. & Richards, A. N., 1938, The action of cyanide and oxygen lack on glomerular function in the perfused frog's kidney. *Amer. J. Physiol.,* 122 : 676-687.

18. Kindred, J. E., 1943, The effect of low barometric pressure on the estructure of the kidney of the white rat. *Amer. J. Physiol.,* 140 : 387-393.

19. Silvette, H., 1945, *In Federation Proc.,* 4 : 65 (ref. in *Ann. Rev. Physiol.,* 1945 : 205).

20. Macdonald, A. D., 1933, The action of pituitary extracts on the kidney. *Quart. J. Exp. Physiol.,* 23 : 319-333.

21. Richards, A. N. & Plant, O. N., 1915, Urine formation by the perfused kidney: preliminary experiments on the action of cafeine. *J. Pharmacol. Exp. Therap.,* 7 : 485-509.

22. Sollmann, T., 1937, *A Manual of Pharmacology,* 5th ed. (*cf.* p. 757).

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 35-42
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

ISOLAMENTO DO ÁCIDO DESOXIRIBONUCLEICO DO FÍGADO E ALGUNS DADOS QUÍMICOS SÔBRE NÚCLEOS ISOLADOS DAS CÉLULAS HEPÁTICAS [1]

GILBERTO G. VILLELA e FERNANDO UBATUBA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D.F.

(Com 3 figuras no texto)

Desde longa data a química dos núcleos celulares vem despertando grande interesse. O conhecimento completo da composição do material nuclear tornou-se essencial para a compreensão da fisiopatologia celular. Entretanto, só recentemente algum progresso real foi feito, uma vez ter sido possivel contornarem-se as dificuldades técnicas inerentes ao problema. Para um estudo dessa natureza tornou-se necessário obter material nuclear em quantidade suficiente e purificado, livre de resíduos citoplasmáticos.

Diferentes técnicas foram empregadas para o isolamento dos núcleos de células de vários tecidos. Todas elas, baseadas em diversos princípios, introduzem, todavia, modificações mais ou menos profundas nos elementos labeis de natureza proteica. Por outro lado, muitos elementos energéticos, solúveis, são provavelmente removidos dos núcleos durante o processo de purificação. Não nos deteremos em analisar as técnicas apontadas na literatura, hoje já bem conhecidas após os trabalhos de STONEBURG (1), MARSHAK (2) e DOUNCE (3).

MIESCHER (4) que foi o pioneiro neste problema empregou em seus estudos, leucócitos (pus) e espermatozoides de peixes. Tal material, rico em núcleos apresenta ainda a vantagem da uniformidade da linhagem celular, condição essencial para a obtenção de dados reproduzíveis. BEHRENS (5) conseguiu separar os núcleos de células hepáticas pela trituração do fígado sêco em misturas de tetracloreto de carbono e benzeno de diferentes densidades e subsequente centrifu-

[1] Recebido para publicação a 2 de Outubro de 1947.

gação fracionada. STONEBURG (1) introduziu novo princípio baseado na destruição da estrutura celular por meio de ácidos ; os núcleos assim isolados das células são a seguir libertados dos resíduos citoplasmáticos por meio da centrifugação fracionada em meio fortemente ácido. Com está técnica, empregando-se solução de ácido citrico a 5%, torna-se possivel o isolamento de grandes quantidades de material nuclear praticamente livre de "debris" citoplasmáticos. Diferentes tecidos assim tratados (cardíaco, hepático, renal, tumores, etc.) fornecem resultados uniformes. Evidentemente o fígado, pela elevada percentagem de células da mesma linhagem e pela sua consistencia especial, torna-se o orgão ideal para o isolamento dos núcleos.

Com a finalidade de estudar as modificações químicas nucleares das células hepáticas em diferentes condições experimentais, apresentamos aqui os primeiros resultados a que chegamos em relação ao fígado normal, descrevendo as técnicas por nós utilizadas. E' provavel, pela análise química dos núcleos celulares, apreciar uma variação nítida no comportamento celular em orgão tão rico de funções e desprovido de diferenciação celular. A célula hepática apresenta uma reatividade nuclear toda especial em diferentes condições funcionais (ação de tóxicos, diferentes hormônios, etc.). Essa reatividade é bem evidente em relação ao seu comportamento peculiar à colchicina, aos hormônios esteróides e à tiroxina. Em condições normais, o fígado apresenta células binucleadas e núcleos gigantes que correspondem a diferentes gráus de poliploidia, resultando um comportamento de todo especial na metabolisação de precursores essenciais à sintese do ácido timonucleico, elemento fundamental da cromatina.

ISOLAMENTO DO ÁCIDO DESOXIRIBONUCLEICO (TIMONUCLEICO) DO FÍGADO

As dosagens do ácido desoxiribonucleico referidas na literatura são feitas tomando-se como padrão o ácido isolado do timo segundo as técnicas de Kossel, Hammarsten ou variantes. Preferimos entretanto, obter o ácido do próprio fígado normal. Não só são apontadas diferenças relativas a diversos gráus de polimerização do produto final, como parece haver modificações relativas à sua composição que possìvelmente, residem nos processos drásticos empregados nas técnicas acima apontadas. O ácido timonucleico parece achar-se restrito ao núcleo celular, constituindo juntamente com uma *histona* a própria *cromatina* (MIRSKY & POLLISTER, (6)) formando-se no nucleo a partir do ácido ribonucleico citoplasmático ou nucleolar (BRACHET, CASSPERSSON).

Empregamos um método aparentemente complexo, mas que nos forneceu, partindo de fígado total, amostra altamente purificada de ácido desoxiribonucleico. Em linhas gerais o método se baseia na extração, da polpa de fígado com solução molar de NaCl, para isolamento da *nucleohistona* fibrosa. A separação do ácido timonucleico foi feita por técnica simples capaz de romper a ligação salina que une a histona ao ácido, processo idealizado por SEVAG (7). O complexo histona-ácido timonucleico em solução aquosa (pH compreendido entre o ponto isoelétrico da histona e a neutralidade) é fortemente agitado com clorofórmio. O *gel* resultante contém a histona, deixando em solução o ácido timonucleico; por extração continuada com clorofórmio, pode-se retirar pràticamente todo o material proteico da solução aquosa. Esquematizamos abaixo a técnica.

200 g. de fígado perfundido com solução salina a 0,9% gelada foram cortados em pequenos pedaços e triturados no "Waring blendor" até obter uma suspensão fina. Centrifugou-se com 7 vezes o volume de solução salina a 0,9%, gelada, para remover a hemoglobina. O residuo foi homogeneizado no "blendor" e adicionado de cloreto de sódio até ficar em concentração molar no volume de cerca de 1 litro. Centrifugou-se em "Sharples" a 25.000 r.p.m. e o residuo desprezado. O sobrenadante (cerca de 900 ml.) foi adicionado de 250 ml. de clorofórmio e 100 ml. de álcool amílico. Levou-se ao "blendor" para homogeneizar e deixou-se 16 horas na geladeira em provete alto. O gel obtido foi separado por centrifugação e o líquido sobrenadante adicionado de 200 ml. de clorofórmio e 80 ml. de álcool amílico. Após 12 horas na geladeira o gel formado foi separado e o líquido sobrenadante adicionado de 1500 ml. de álcool absoluto. Após 24 horas em repouso na geladeira o precipitado foi separado e lavado duas vezes com álcool absoluto por centrifugação. O pó resultante após lavagem com éter foi sêco ao ar, dissolvido em 160 ml. de solução de NaCl M e homogeneizado em "blendor" com 40 ml. de clorofórmio e 15 ml. de álcool amílico. Após centrifugação o gel foi separado. Repetiram-se as extrações com clorofórmio e álcool amílico até não mais se formar gel. O líquido sobrenadante (200 ml.) foi precipitado com 800 ml. de álcool absoluto. Formou-se imediatamente um precipitado fibroso. Após 12 horas na geladeira centrifugou-se o líquido e o precipitado foi lavado 3 vezes com álcool absoluto e 3 vezes com éter. Rendimento da histona = 1,50 g. Rendimento em ácido desoxiribonucleico = 125 mg.

A caracterização do ácido resultante foi feita pelas dosagens de N e P, por meio da reação de Dische (8), considerada especifica para o ácido desoxiribonucleico e pela determinação do espectro de absorção U.V. em solução aquosa. Nos primeiros ensaios espectrofotográficos com espectrografo de quartzo Zeiss, verificou-se um maximo de absorção em torno de 260 mμ; posteriormente obtivemos a curva de absorção do material em espectrofotometro Beckman, modelo DU (fig. 1).

A dosagem do nitrogênio foi feita pela técnica de micro-Kjehdahl. O fósforo foi dosado pela técnica de Fiske & Subbarow (9). A reação de Dische foi

feita segundo as instruções de DOUNCE (10) usando-se fotocolorimetro Lumetron com filtro 530; com 1 mg. de amostra a densidade ótica foi de 0.245.

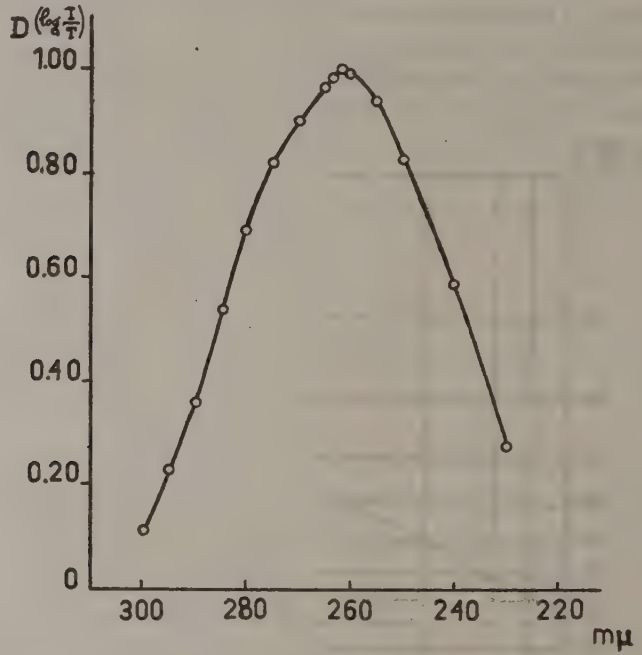


Fig. 1 — Curva de absorção do desoxiribonucleato de sódio na região ultra violeta com o espectrofotómetro de Beckman.

O resultado da análise do ácido desoxiribonucleico foi o seguinte:

N	10.8%
P	4.6%
relação N/P	2.34

HAMMARSTEN obteve para o ácido timonucleico extraído do timo 11,97% de N, 8,09 de P e a relação N/P = 1,68 (11).

Estabelecidas as características do ácido timonucleico assim isolado, fizemos uma curva padrão para a dosagem em material nuclear, empregando quantidades de ácido entre 0.6 e 4 mg . A técnica da reação foi a seguinte:

1) Deita-se a quantidade desejada de material em tubo graduado de rolha esmerilhada de 1,8 por 18 cm. e adiciona-se 0.5 ml. de água distilada.
2) Colocam-se os tubos em banho fervente até dissolução completa do material; nas concentrações maiores obtem-se aumento sensivel da viscosidade da solução.
3) Adiciona-se 1 ml. do reativo de Dische e deixa-se 10 minutos no banho de água fervente. Desenvolve-se côr azul.

4) Esfria-se ràpidamente os tubos e dilui-se para 10 cm³ com a mistura acetosulfurica.
5) A transparencia é lida no fotometro após 5 minutos.

Fazendo-se o estudo do desenvolvimento da côr, observamos que ela atinge um máximo ao fim de 1 hora, sendo que as variações sensíveis se dão principalmente dentro dos primeiros 30 minutos. A côr permanece estável cerca de 48 horas. Aconselhamos conservar o reativo na geladeira. Ele congela

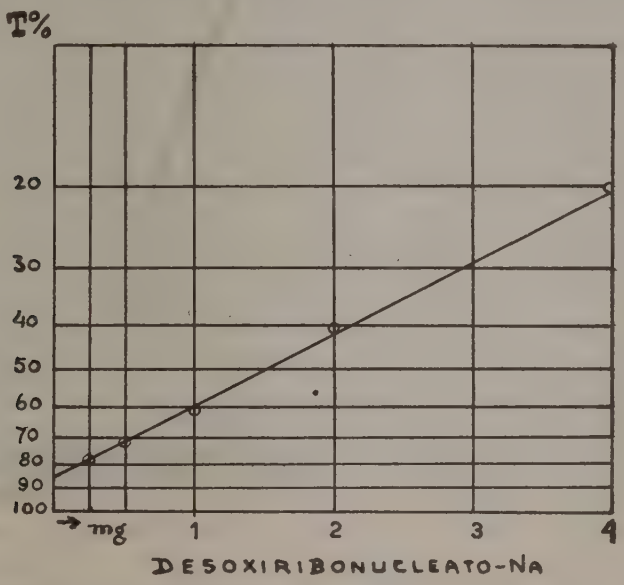


Fig. 2 — Relação entre as concentrações de desoxiribonucleato de sódio e a intensidade da côr pela reação de Dische no volume de 10 ml.

com facilidade e deve ser descongelado ràpidamente no momento de usar em banho de água quente. Conservando-se o reativo à temperatura ambiente desenvolve-se com o tempo côr azul, se bem que possa ser usado nestas condições, desde que se faça a devida prova em branco.

ISOLAMENTO DOS NÚCLEOS DAS CÉLULAS HEPÁTICAS

A técnica de Stoneburg (1) nos forneceu resultados constantes. Si bem que muito simples, bastando extrair o tecido macerado com solução gelada de ácido cítrico a 5% (pH 3.4-4.0) e de condicionar alto rendimento de nucleos pràticamente sem resíduos citoplasmáticos (fig. 3) não se presta para a análise química de elementos solúveis ou labeis (enzimas principalmente). Williams e cols. (12) determinaram a concentração de diferentes elementos do complexo vitamínico B, contornando a dificuldade pelo uso da técnica de Behrens. Dounce (13) patenteou a presença de diferentes enzimas nos núcleos celulares modificando a técnica de Stoneburg; utilizou Dounce concentração mais

baixa de ácido cítrico (M/475) em pH 6.0-6.2; é possível que as concentrações de enzimas no núcleo ainda sejam apreciàvelmente maiores, devido a certo gráu de remoção que toma parte durante o processo de purificação. Todavia, empregando-se a técnica original de Stoneburg, conseguimos em ensaios preliminares verificar relativamente alta concentração de tiamina nos núcleos da célula hepática de ratos (técnica de Sarett e Cheldelin com o *Lactobacillus fermentum*). Por outro lado, não nos foi possível patentear nos mesmos núcleos assim isolados o enzima responsável pela inativação da estrona (estrogenase) empregando as técnicas químicas de Zimmermann (14) e da fluorescência da estrona em meio fortemente ácido (Finkelstein, Hestrin & Koch) (15). Sendo provável a desnaturação do enzima nessas condições estão em curso outras experiências com núcleos tratados por processo menos drástico.

Apresentamos a seguir os detalhes técnicos de que nos utilizamos para o isolamento dos núcleos de células do fígado de ratos normais.

Usamos sempre ratos machos adultos sacrificados por pancada na cabeça. Após a abertura da cavidade tóraco-abdominal o fígado de cada animal foi ràpidamente perfundido com cerca de 100 ml. de solução salina a 0.9% através as veias suprahepáticas. O órgão perfundido foi dissecado e colocado em solução salina gelada. Uma vez o material de 4 a 5 ratos reunido na salina gelada o tecido foi enxuto em papel de filtro, pesado, colocado em 5 volumes de solução a 5% de ácido cítrico (gelada) e picado a tesoura. Após 30 minutos na geladeira para maceração o tecido foi triturado em gral com um pouco de gase e filtrado em 2 a 3 camadas de gase com malha cruzada. Devemos assinalar que com estas condições o rendimento de núcleos é muito próximo daquele obtido triturando-se o tecido em "Waring blendor".

A suspensão fina obtida foi filtrada em gase para becher em banho de gelo picado e sal (cerca de -4.°C). Nestas condições o material não congela durante a manipulação rápida que se segue.

A suspensão é centrifugada por 1 minuto a 500 r.p.m. para a decantação das partículas maiores. A seguir os sobrenadantes são reunidos e centrifugados por 10 minutos a 2500-3000 r.p.m., mantendo-se a temperatura baixa por meio de água gelada em torno dos tubos de centrifugação. Terminada a centrifugação nota-se nìtidamente a seguinte estratificação do material: camada inferior branca, composta pràticamente de núcleos livres; camada logo acima, pardacenta, rica em fragmentos citoplasmáticos e ainda com bastantes núcleos; camada líquida turva composta pràticamente de finos detritos citoplasmáticos e partículas de gordura. Geralmente sobrenada grande quantidade de gordura amarelada nesta fase.

O material dos tubos deve ser sifonado cuidadosamente até a camada pardacenta acima dos núcleos e o sobrenadante desprezado. Ressuspende-se o resíduo depositado em ácido cítrico a 5% gelado e agita-se fortemente para desfazer os granulos maiores. E' feita nova centrifugação a 2500-3000 r.p.m. sòmente 3 minutos e novamente despresa-se o sobrenadante acima da camada branca do fundo dos tubos. Nesta fase já é bem nítida a linha de separação

entre a camada de núcleos e a imediatamente superior, pràticamente constituida agora de residuos citoplasmáticos.

Repete-se pelo menos 4 vezes a lavagem do material nuclear nos tubos de centrifugação com ácido cítrico a 5%.

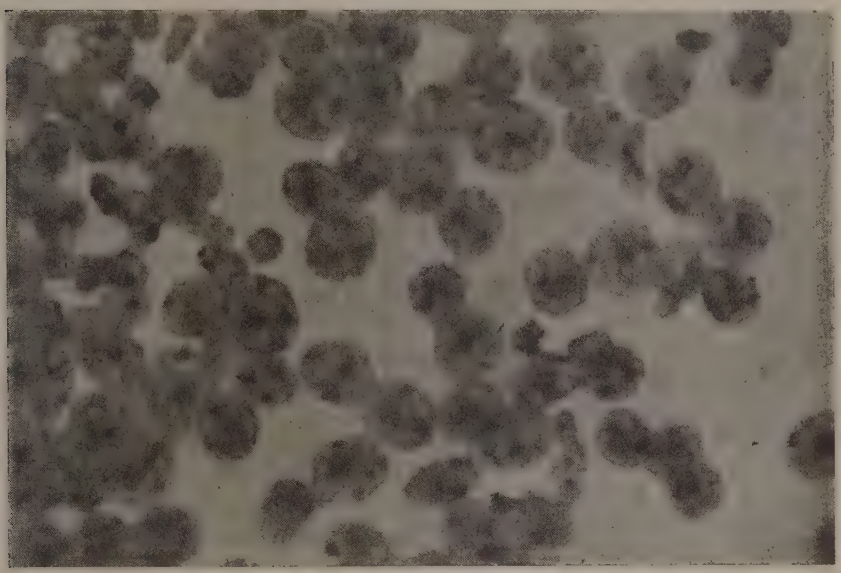


Fig. 3 — Microfotografia dos núcleos isolados do fígado de rato. X 800.

Aconselhamos a ressuspensão do material após a última centrifugação em cerca de 100 ml. de ácido cítrico gelado e decantação das partículas maiores em provete alto por 30 minutos na geladeira. Recolhendo-se os 95 primeiros centimetros cubicos de suspensão é possivel separar partículas mais grosseiras.

A suspensão final é então centrifugada novamente e o resíduo submetido a uma unica lavagem no centrífugo com álcool absoluto gelado por 1 a 2 minutos. O residuo final é sêco em dessecador de vacuo com ácido sulfúrico.

Apresentamos abaixo alguns dados obtidos com os núcleos provenientes de fígado de 29 ratos adultos.

Lipideos totais	14%
Ácido desoxiribonucleico	30%

Os lipídeos foram dosados pela extração do material com álcool-éter a quente e pesada diferencial.

Para a dosagem do ácido timonucleico, em núcleos assim isolados, recomendamos remover a turvação do líquido corado, após a reação, pela junção de cerca de 0.1 g. de celite (Hyflosupercel) e filtração, ao invés de centrifugar, como aconselha DOUNCE.

Desejamos deixar aqui consignados os nossos melhores agradecimentos ao Prof. Carlos Chagas, Diretor do Instituto de Biofísica da Faculdade de Medicina, por nos ter facilitado a obtenção da curva de absorção com o aparelho de Beckman.

SUMMARY

ISOLATION OF DESOXYRIBONUCLEIC ACID FROM LIVER AND SOME CHEMICAL DATA FROM RAT LIVER NUCLEI

Rat liver nuclei were isolated using the citric acid technique of Stoneburg. The nuclei were dehydrated with alcohol and dried in vacuum. The dry powder was employed for the determinations of total lipids and desoxyribonucleic acid. Liver from 20 normal adult white rats were used and the values averaged 14% for total lipids and 30% for desoxyribonucleic acid. The Dische color reaction adapted by Dounce was used . A standard curve (fig. 2) was obtained with the desoxyribonucleic acid prepared from rabbit's liver. The method consisted essentially in the extraction of the liver tissue with cold molar saline solution and a subsequent treatment with chloroform and amyl alcohol for the separation of the thymonucleic acid from the histone. The desoxyribonucleic acid was tested for purity; phosphorus and nitrogen showing the ratio of 2.34. A typical ultra violet absorption curve was obtained with the Beckman spectrophotometer (fig. 1).

BIBLIOGRAFIA

1. STONEBURG, C. A., 1939, Lipids of the cell nuclei. *J. Biol. Chem.*, 129 : 189-193.
2. MARSHAK, A., 1941, P_{32} uptake by nuclei. *J. Gen. Physiol.*, 25 : 275-291.
3. DOUNCE, A. L., 1943, The desoxyribonucleic acid content of isolated nuclei of tumor cells. *J. Biol. Chem.*, 151 : 235-240.
4. MIESCHER — apud MATTHEWS, P. A., Physiological Chemistry.
5. BEHRENS, M., 1929, Zell und Gewebetrennung, *Abderhalden's Handb. Arbeitsnaeth.*, 10 (II) : 1363-1392.
6. MIRSKY, A. E. & POLLISTER, A. W., 1942, Nucloeproteins of cell nuclei, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 28 : 344-352.
7. SEVAG, M. G., LACKMAN, D. B. & SMOLENS, J., 1938, The isolation of the components of streptococcal nucleoproteins in serologically active form. *J. Biol. Chem.*, 124 : 425-436.
8. SEIBERT, F. B., 1940, Removal of impurities, nucleic acid and polysaccharide from tuberculin proteins. *J. Biol. Chem.*, 133 : 593-600.
9. FISKE, C. & SUBBAROW, Y. 1925, The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66 : 375-382.
10. DOUNCE, A. L., 1943, Further studies on isolated cell nuclei of normal rat liver. *J. Biol. Chem.*, 151 : 221-233.
11. HAMMARSTEN, E., 1924, Zur Kenntnis der biologischen Bedeutung der Nucleinsäureverbindungen. *Bioch. Zeit.*, 144 : 383-466.
12. ISBELL, E. R., MITCHELL, H. K., TAYLOR, A. & WILLIAMS, R. J., 1942, A preliminary study of B vitamins in cell nuclei. *Univ. Texas Publ.* n.º 4237 : 81-83.
13. DOUNCE, A. L., 1943, Enzyme studies on isolated cell nuclei of rat liver. *J. Biol. Chem.*, 147 : 685.
14. ZIMMERMANN, W., 1935, Eine Farbereaktion der Sexualhormone und ihre Anwendung zur quantitativen colorimetrischen Bestimmung. *Zeit. Physiol. Chem.*, 233 : 257-264.
15. FINKELSTEIN, M., HESTRIN, S. & KOCH, W., 1947, Estimation of steroid estrogens by fluorimetry. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 64-71.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 43-55
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

ON TWO NEW GENERA OF AMERICAN "REDUVIINAE", WITH A KEY AND NOTES ON OTHERS (Reduviidae, Hemiptera) [1]

HERMAN LENT and PETR WYGODZINSKY
Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Ecologia e Experimentação
Rio de Janeiro, D.F. Agrícola, Rio de Janeiro, D.F.

(With 54 text-figures)

In a paper published a short time ago (LENT & WYGODZINSKY, 1947) we have recognised various genera within the old genus *Zelurus* Hahn *(Spiniger* auct.). Study of additional species of American *Reduviinae* makes it necessary to erect two further genera in the subfamily. As before the male genitalia have proved to furnish excellent characters of generic value.

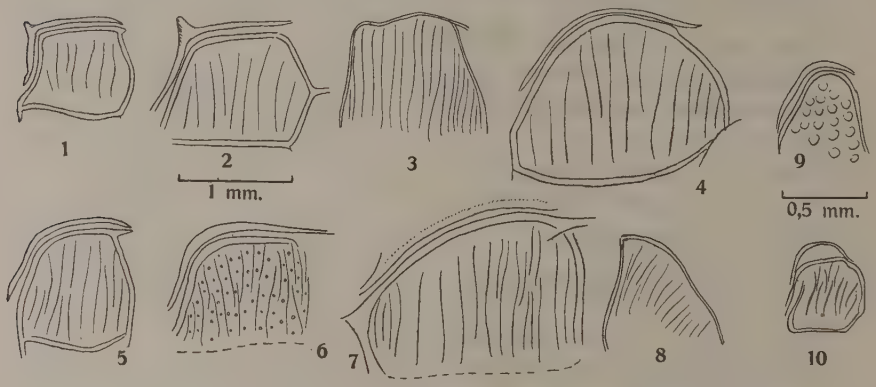
We owe the insects described in the present paper to Dr. MONT A. CAZIER, of the American Museum of Natural History, New York, and Dr. ROBERT L. USINGER, of the University of California, Berkeley, California. We are obliged to both these colleagues for the privilege to study their material.

Before giving the descriptions of the new genera and species, we want to call attention to a character of the *Reduviinae* that seems to be of generic value, but has obviously not yet been used up till now.

We have been examining the sculpture and shape of the metapleura, as limited by distinct carinae. These characters seems to be fairly constant within the genera, though they may differ considerably from one genus to the other, as can be seen in our figs. 1-10. An additional character of the metapleura is to be found in the absence or presence of a spiniform tubercle above the upper anterior angle of

[1] Received for publication November 10, 1947.

the metapleura. We have found this tubercle, which when present is quite distinct, so far only in *Leogorrus* (fig. 1) and the new genus *Corupaia* (fig. 2) described below. It is absent in *Reduvius* (fig. 3), *Opisthacidius* (fig. 4), *Neivacoris* (fig. 5), *Zeluroides* n. g. (fig. 6), *Zelurus* (fig. 7), *Pantopsilus, Aradomorpha* (fig. 8), *Nalata* (fig. 9) and *Microlestria* (fig. 10). It would be interesting to look for this tubercle in other reduviine genera.



Metapleura of reduviine genera — Fig. 1: *Leogorrus litura* (F.); fig. 2: *Corupaia brasiliensis* n. g., n. sp.; fig. 3: *Reduvius personatus* (L.); fig. 4: *Opisthacidius rubropictus* (H. Sch.); fig. 5: *Neivacoris steini* (Stal); fig. 6: *Zeluroides mexicanus* n. g., n. sp.; fig. 7: *Zelurus lepeletierianus* (Kirkaldy); fig. 8: *Nalata aspera* Stal; fig. 9: *Aradomorpha championi* Lent & Wygod.; fig. 10: *Microlestria fuscicollis* (Stal). — Wygodzinsky del.

The following key, which is a translation of our former key, will also include the two new genera described below.

1. Dorsal surface of femora strongly granulated 2
— Dorsal surface of femora not strongly granulated 5
2. Genae lamellate and elongate, including between them the base of the rostrum; antennae inserted laterally on head ..... *Aradomorpha* Champion
— Genae different; antennae inserted dorsally on head 3
3. Anterior femora on dorsal surface apically with a curved spiniform process ..... *Mirambulus* Breddin
— Anterior femora dorsally with no such process 4
4. Anterior trochanter ventrally with a stout spiniform process; corium and membrane of hemelytra of the usual type ..... *Nalata* Stal
— Anterior trochanter ventrally without process; membrane very large, attaining almost the base of hemelytron, corium extremely narrow ..... *Microlestria* Stal
5. Head ventrally with spiniform processes; anterior tibia without spongy fossula ..... *Patago* Bergroth
— Head ventrally without processes; anterior tibia with spongy fossula 6

6.	Apex of all femora at ventral surface with 1 + 1 distinct dentiform processes	*Leogorrus* Stal
—	Apex of femora without such processes	7
7.	Disc of anterior lobe of pronotum without tubercles or spines	8
—	Disc of anterior lobe of pronotum with 1 + 1 or 2 + 2 tubercles or spines	12
8.	Anterior and median femora with dentiform processes on ventral surface	*Pantopsilus* Berg
—	Anterior and median femora without processes on ventral surface	9
9.	Anteocular part of head tapering towards apex at lateral view; larger species, over 10 mm.	10
—	Anteocular part of head rounded-elevate, truncate apically; small species, 6–7 mm.	*Peregrinator* Kirkaldy
10.	Anterior femora slightly sulcate longitudinally on ventral surface, with two longitudinal rows of very numerous short bristles; the two membranal cells of equal width	*Corupaia* n. g.
—	Anterior femora not sulcate at ventral surface, with simple hairs only; one membranal cell wider than the other	11
11.	Outer cell of membrane wider than inner cell; posterior border of hind lobe of pronotum not reflexed	*Reduvius* Fabricius
—	Inner cell of membrane wider than outer cell; posterior border of hind lobe of pronotum reflexed	*Pseudozelurus* Lent & Wygod.
12.	Pronotum distinctly granulate	13
—	Pronotum not granulate	14
13.	Disc of anterior lobe of pronotum with 2 + 2 tubercles; anterior and median femora very stout, much stouter than posterior ones	*Opisthacidius* Berg
—	Disc of anterior lobe of pronotum with 1 + 1 tubercles or short spines; anterior and median femora slender, not much stouter than posterior ones	*Zeluroides* n. g.
14.	Jugae very elongate, attaining or surpassing apex of head; tylus vertical	*Neivacoris* Lent & Wygod.
—	Jugae less elongate, not attaining apex of head; tylus never vertical	*Zelurus* Hahn

Corupaia n. g.

Reduviinae. Somewhat depressed dorso-ventrally. All bristles simple; surface of body and legs without granulations.

Head not very elongate, anteocular part as long as postocular; tylus almost horizontal. Antennae long and slender, their insertions dorsally before eyes; first joint somewhat shorter than head, however surpassing its apex considerably. Jugae, genae and tylus not salient. Eyes large; ocelli large, inserted on a distinct ocelliferous tubercle. Rostrum curved, rather stout, first and second joint of equal length, third short.

Collar with 1 + 1 distinct antero-lateral tubercles. Pronotum wide, strongly polished. Anterior lobe convex, as long as posterior one, without any tubercles or spines, its median longitudinal furrow distinct at posterior border only. Posterior lobe with its humeri rounded, rounded at posterior border, anteriorly with a median longitudinal furrow. Scutellum triangular, without any basal processes, its disc slightly excavated, its posterior process long and slender.

Legs of medium size, anterior and median ones shorter than posterior pair ; posterior femora not attaining apex of abdomen. Anterior and median femora much stouter than posterior ones, ventrally slightly sulcate longitudinally along their whole length, the excavation limited laterally by two rows of short and very numerous bristles. Tibiae delicate, anterior and median ones ventrally with one row of very numerous short and very stout bristles ; spongy fossula of moderate length on anterior and median tibiae, a small spine present at base of spongy fossula of anterior tibia. Tarsi delicate, three--jointed ; first joint short, second and third of subequal length.

Metapleura above its upper anterior angle with a distinct tubercle.

Membrane of hemelytra with two cells of subequal width.

Abdomen ventrally with median longitudinal carina. Hypopygium of male with micro and macrochaetae ; median dorsal process elongate, spiniform. Basal plates of phallosoma united for the basal two thirds of their length, with a curious hook-shaped process ; phallosoma elongate, its median dorsal chitinization tongue-shaped. Claspers elongate, simple, slender at base, strongly widened apically.

Genotype — Corupaia brasiliensis n. sp.

This genus seems to be approach *Pantopsilus* Berg ; it differs, however, by the differently shaped head, the very characteristic armature of the front legs, the presence of a tubercle above the upper anterior margin of the metapleura, the shorter legs, the presence of micro- and macrochaetae on the genital segment, and the entirely different aedeagus and claspers.

The above mentioned characters will also serve to separate *Corupaia* from *Pseudozelurus* Lent & Wygod. and *Reduvius* Fabricius, to which it will run in our key (Lent & Wygodzinsky, 1947).

Corupaia brasiliensis n. sp.

(Figs. 11-24)

Male — General aspect as in fig. 11. Length (to apex of hemelytra) 17.5 mm. ; maximum width of pronotum 4.5, of abdomen 5.0 mm. Head with rostrum, pronotum, pleura, sterna and scutellum bright brown, smooth, highly polished. Antennae, legs and abdomen yellowish brown, shining. Hemelytra dark piceous, somewhat fading towards apex ; extreme base of corium reddish ; apex of clavus, inner angle of corium adjoining clavus and adjoining region of base of membrane yellow, so that there results a distinct heartshaped yellow spot behind scutellum. Rather long yellowish bristles on all parts of the body (with exception of hemelytra and wings) more numerous on antennae and legs.

Dorsal and lateral view of head as in figs. 12-13. Interocular region very slightly convex. Distance between eyes dorsally corresponding to their width when seen from above; their distance on ventral surface corresponding to diameter of second joint of rostrum at middle when seen from below; when seen from the side the eyes are beanshaped and seem to attain the ventral and

Fig. 11 — *Corupaia brasiliensis* n. g., n. sp., male, holotype. — Lemos fot.

dorsal surfaces of the head. Jugae not salient. Genae somewhat elevated, rounded apically. Ocelli rather large, their distance from eyes equal to their own distance. Rostrum as in fig. 13, distinctly compressed laterally. Length of 1st joint of antennae 2.0 mm.; relative length of joints = 1 : 2.15 : 1.35 : 1.05. All joints with very long bristles the length of which surpasses 3 to 5 times the diameter of the respective joints; bristles on joints 1 and 2 very numerous, on 3 and 4 sparse. Head distinctly shorter than pronotum (0.8 : 1.0).

Lateral processes of pronotal collar short, rounded. Anterior lobe of pronotum highly convex, smooth, shining, the sides only very slightly diverging posteriorly, almost parallel; median longitudinal furrow distinct only posteriorly, joining tranversal furrow. Posterior lobe strongly widened poste-

riorly, rather convex on disk behind, smooth and highly polished, median longitudinal furrow distinct on its anterior 4/5, composed of about 7 small excavations separated by minute transversal ridges. Humeri rounded. Scutellum

Corupaia brasiliensis n. g., n. sp., male, holotype — Fig. 12: Head and thorax, seen from above; fig. 13: head and thorax, lateral aspect; fig. 14: anterior leg; fig. 15: base of anterior femur, seen from below; fig. 16: apex of tibia and tarsus of anterior leg; fig. 17: posterior tarsus; fig. 18: hemelytron; fig. 19: bristles of hypopygium; fig. 20: posterior process of hypopygium; fig. 21: clasper, seen from outside; fig. 22: clasper, lateral aspect; fig. 23: aedeagus, lateral aspect; fig. 24: phallosoma, seen from above. — Wygodzinsky del.

with its disk excavated, apparently (partly destroyed by pin) with distinct transversal ridge; apex of scutellum prolonged into a medium sized slightly elevated and distinctly laterally compressed spiniform process.

Processes of prosternum very short, with numerous short bristles. Mesopleura almost smooth, metapleura strongly rugose transversally.

Legs as in generic description and figs. 14-17. Anterior femora very stout. Spongy fossula occupying about 1/3 of the total length of the anterior

tibiae. Median legs very similar to anterior ones. Femora and tibiae of all pairs beset with long bristles, those on posterior tibiae rather numerous, their length surpassing the diameter of this joint.

Hemelytra (fig. 18) as in generic description, surpassing apex of abdomen by 2.0 mm.

Abdomen ventrally with a few long bristles; median longitudinal carina distinct until segment 6, evanescent on 7; hypopygium (segment 9) very slightly keeled ventrally. Genitalia as in generic description and figs. 19-24.

Locality — Corupa (Hansa Humbolt), Santa Catarina, Brazil, A. Maller col., 12/945, Frank Johnson donor (male holotype, Amer. Mus. Nat. Hist.).

This species is superficially surprisingly similar to the piratine *Tydides rufus* (Serville). Students of the group will remember that one of the most important generic characters for the differentiation of *Tydides* (with its only species *rufus)* is to be found on the metapleura, just as in the present genus which is clearly a reduviine. Should this be a very strange example for Vavilov's law of homologous series in variation? This is not the first case of great similarity of two species of *Reduviidae* which belong to two quite different subfamilies (see *Erbessus validus* and *Beharus cylindripes,* and *Erbessus rufiventris* and *Manicoris rufipes,* mentioned by Wygodzinsky, 1946).

Zeluroides n. g.

Reduviinae. Somewhat depressed dorso-ventrally. All bristles simple. Head, pronotum, pleura and sterna distinctly granulate, other regions of the body apparently without granulations, however under high magnification with very minute tubercles.

Head moderately elongate, anteocular part as long as postocular part. Tylus almost horizontal. Antennae long and slender, their insertion dorsally before eyes; first joint somewhat shorter than head, however surpassing its apex considerably. Jugae elevated, lamellate, rather salient; tylus and genae not salient. Rostrum curved, rather slender, first and second joint of subequal length, third short.

Collar with 1 + 1 distinct antero-lateral tubercles. Pronotum rather wide, anterior lobe granulose, posterior lobe granulose and rugose. Anterior lobe with 1 + 1 submedian and 1 + 1 lateral tubercles, the median longitudinal furrow distinct. Posterior lobe with its humeri salient, posterior border rounded. Scutellum triangular, without any basal processes, its disk slightly excavate, prolonged posteriorly into a short and stout spine.

Legs of medium size, anterior and medium ones slightly shorter than posterior pair; posterior femora not attaining apex of abdomen. Anterior and median femora not much stouter than posterior ones, rather delicate, ventrally with a few stout spiniform processes and several very small denticles. Tibiae delicate, anterior and median ones ventrally with rather numerous short spinelike bristles; a short spongy fossula present on anterior and median tibiae. Tarsi delicate, three-jointed; first joint short, second and third subequal.

Metapleura above its upper anterior angle without tubercle.

Membrane of hemelytra with two cells of subequal width.

Abdomen ventrally with median longitudinal carina, in both sexes. Hypopygium of male with micro- and macrochaetae; median posterior dorsal process elongate, spiniform. Basal plates of phallosoma short and stout. Phallosoma short and stout, its dorsal chitinization ringshaped. Claspers slender, with a distinct notch medially, and strongly truncate apically. Sclerite formed by the union of the 8th and 9th tergite with 1 + 1 basal chitinous invaginations.

Genotype — Zeluroides mexicanus n.sp.

In our key (LENT & WYGODZINSKY, 1947) the species of *Zeluroides* will run to *Zelurus* Hahn. They differ from the species of this genus by the granulation of the head and thorax, the minute tubercles of the ventral segments, and the very distinctive characters of the male and female. The granulation and the ring-shaped dorsal chitinization of the phallosoma are suggestive of *Opisthacidius* Berg to which *Zeluroides* is certainly related; it differs however by the general facies, the slender anterior and median legs, the presence of only 1 + 1 discal tubercles on the anterior lobe of the pronotum, and other characters.

Zeluroides mexicanus n. sp.

(Figs. 25, 27-47)

General shape of body as in fig. 25. Length of male (to apex of hemelytra) 21.0, of female 21.5 mm.; maximum width of pronotum 5 mm., of abdomen 5.5 mm. in male, 6.0 mm. in female.

General color pattern as in fig. 25. Head, rostrum, antennae, thorax and scutellum brownish, abdomen stramineous. The following regions are dark piceous: interocular region, median longitudinal furrow on posterior lobe of pronotum, antero-lateral angles and posterior region of lateral furrows of same lobe, pro-, meso- and metapleura, and basal two thirds of scutellum. Hemelytra dark piceous, somewhat faded towards apex, clavus and base of corium stramineous, a transversal stripe across apical half of corium and base of mem-

brane yellowish white. Legs and abdomen uniformly stramineous, genital segments in both sexes darkened.

Head (figs. 27-29) very delicately granulated, neck polished. Interocular space of male dorsally not quite as wide as eyes seen from above (1 : 1.15), as wide as eyes in female. Seen from the side, the eyes in both sexes attain the

Fig. 25 — *Zeluroides mexicanus* n. g., n. sp., allotype female. Fig. 26 — *Zeluroides americanus* n. g., n. sp., holotype male. — José D. dos Santos fot.

ventral but not the dorsal surface of the head. Ocelli large, the ocelliferous tubercle strongly elevated. Jugae lamellate, rather salient, subacute apically. Genae not salient, rounded. Rostrum as in fig. 29, beset with several strong bristles, most numerous on apical joint. Length of first joint of antennae of male 2 mm., of second 6 mm.; third and fourth ? Joints with very short bris-

tles only. Antennae of female? Head very slightly shorter than pronotum (6 : 7).

Pronotum somewhat shining, strongly and minutely granulate, granulation on anterior lobe arranged in regular pattern (fig. 27) on posterior lobe com-

Zeluroides mexicanus n. g., n. sp. — Fig. 27: Female, head and pronotum, seen from above; fig. 28: male, head seen from above; fig. 29: male, head and thorax, lateral aspect; fig. 30: anterior leg; fig. 31: hemelytron; fig. 32: genitalia of female, seen from the side; fig. 33: genitalia of female, seen from below; fig. 34: genitalia of female, seen from behind; fig. 35: 8th and 9th tergites, seen from above; fig. 36: same, seen from behind; fig. 37: lobe of 8th sternite, with anterior gonapophysis; fig. 38: median gonapophysis; fig. 39: posterior gonapophysis; fig. 40: male, hypopygium with apical process and claspers; fig. 41: bristles of hypopygium; fig. 42: posterior process of hypopygium; fig. 43: clasper, outer surface; fig. 44: clasper, inner surface; fig. 45: clasper, lateral aspect; fig. 46: phallosoma, lateral aspect; fig. 47: phallosoma, dorsal view. — Wigodzinsky del.

pletely occupying the disc. Lateral processes of pronotal collar salient, with a minute subapical tubercle. Anterior lobe of pronotum rather convex, distinctly widened posteriorly; discal tubercles spiniform, short, rather slender;

lateral tubercles very short, however distinct. Posterior lobe with a few transverse rugae at base of median longitudinal furrow, the latter rather shallow, however distinct, not quite attaining posterior border; humeri salient, subacute; 1 + 1 submedian longitudinal carinae distinct only at base of posterior lobe.

Scutellum simple, granulose, its disk almost flat, only very slightly excavate longitudinally; lateral carinae joining posteriorly, forming an apical spiniform process of moderate length (figs. 27, 29) which is pointed distally. Pro-, meso- and metapleura granulose, the latter strongly rugose transversally.

Anterior and median legs relatively slender. Anterior femora (fig. 30) ventrally with 3-5 rather large tubercles at the apex of which is inserted a small spine, and a few very small tubercles near base. Spongy fossula of anterior tibia occupying about 1/5 of total length of this joint. Median pair of legs very similar to anterior one. All joints of legs with delicate bristles in moderate number, the length of which does not attain or surpass the diameter of the respective joints.

Hemelytra as in fig. 31, their color pattern described as above; in both sexes the hemelytra surpass apex of abdomen by about 3 mm.

Median longitudinal carina on ventral surface of abdomen extending to 6th segment in female and 7th in male.

Genitalia of female as in generic description and figs. 32-39. Genitalia of male as in generic description and figs. 40-47. Apical process of hypopygium very elongate. Claspers very strongly truncate apically, with relatively short and not very numerous bristles. Dorsal chitinization of phallosoma forming a closed ring.

Locality — Oaxaca, México, L. Mazzotti col., 1939 (male holotype, to be deposited in the United States National Museum; female allotype in the Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Hemiptera collection n.º 736).

Zeluroides americanus n. sp.

(Figs. 26, 48-54)

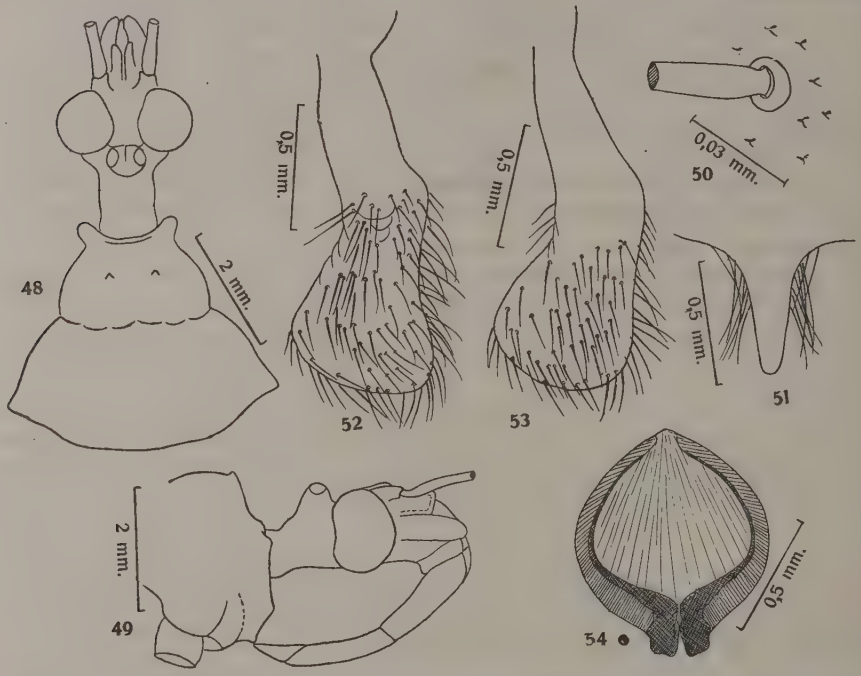
Male — General features much as in *Z. mexicanus*. General shape as in fig. 26. Length (to apex of hemelytra) 21.0, maximum width of pronotum 4.0, of abdomen 5.0 mm.

Color pattern as in fig. 26. Head, rostrum, antennae, thorax and legs uniformly stramineous, abdomen yellowish. Color pattern of hemelytra much as in *Z. mexicanus,* however much faded and with the large transversal fascia obviously interrupted at middle, limited to corium only. Genitalia somewhat darkened.

Head (figs. 48-49) much as in *Z. mexicanus,* however with the eyes larger; interocular space dorsally less than half as wide as one eye (1 : 2.25); when seen from the side the eye attains the ventral as well as the dorsal surface of

the head. Length of first joint of antennae, 2.0, of the second 6.0 mm., both joints beset with very short hairs only.

Pronotum much as in *Z. mexicanus,* however with the discal processes of the anterior lobe very short, lateral tubercles almost indistinguishable. Humeri not very salient, subacuminate ; posterior lobe of pronotum distinctly less wide than in *Z. mexicanus*.



Zeluroides americanus n. g., n. sp., male — Fig. 48 : Head and pronotum, seen from above ; fig. 49 : head and anterior lobe of pronotum, seen from the side ; fig. 50 : base of microchaeta of hypopygium, with minute tubercles ; fig. 51 : posterior process of hypopygium ; fig. 52 : clasper, outer surface ; fig. 53 : clasper, inner surface : fig. 54 : dorsal chitinization of phallosoma. — Wygodzinsky del.

Anterior femora distinctly more delicate than in *Z. mexicanus,* however with identical armature. Spongy fossula of anterior tibia occupying about 1/3 of the total length of this joint.

Genitalia as in figs. 50-54. Apical process of hypopygium rather short. Claspers widened apically, only slightly truncate, their bristles relatively long and numerous. Dorsal chitinization of phallosoma forming a ring which is open apically.

Locality — ? Arizona (male holotype, to be deposited in the United States National Museum), N.º 5129, labelled *Spiniger bicolor* Stal.

The male of this species differs from the male of *Z. mexicanus* chiefly by the slightly different coloring, the much larger eyes, the longer spongy fossula on anterior tibiae and the distinctive genitalia. Its rather uniform stramineous color seems to indicate the desert as its habitat. This is doubtlessly the species mentioned by BANKS (1910) as *Spiniger bicolor* Stal, which we know and which is completely different.

BIBLIOGRAPHY

BANKS, N., 1910, Catalogue of the nearctic Hemiptera-Heteroptera, 103 + VIII pp., Philadelphia.

LENT, H. & WYGODZINSKY, P., 1947, Contribuição ao conhecimento dos *Reduviinae* americanos (Reduviidae, Hemiptera). *Rev. Brasil. Biol.*, 7(3): 341-368, 88 figs.

WYGODZINSKY, P., 1947, Sôbre um novo gênero de *Harpactorinae* do Brasil, com notas sôbre os gêneros *Harpactor* Laporte e *Erbessus* Stal (Reduviidae, Hemiptera). *Rev. Ent., Rio de Janeiro,* 17 (3): 401-416, 5 figs., 7 pls.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 57-60
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

COPROPORFIRINÚRIA NA INTOXICAÇÃO PELO DICUMAROL [1]

GILBERTO G. VILLELA e MARIA ISABEL MELLO
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D.F.

A intoxicação experimental pelo 3,3'-metilenobis (4-hidroxicumarina) ou dicumarol determina a queda acentuada da protrombina do plasma e consequente aumento do tempo de coagulação do sangue (3). Admitindo-se que a protrombina seja produzida no fígado procurou-se verificar se este orgão apresentava-se lesado quando se ministravam doses elevadas de dicumarol. Já os estudos iniciais com o trevo doce indicaram que o fígado mostra-se lesado (Roderick) (4). Entretanto, Emmel & Dam, estudando a ação tóxica do dicumarol sôbre o pinto, observaram o aparecimento de fígado gordo, mas ausência de lesões hepáticas (1). Roderick, por outro lado, observara que na intoxicação pelo trevo doce o fibrinogênio do plasma diminue sensivelmente. Como o fibrinogênio forma-se no fígado a sua baixa no plasma parece correr por conta de lesões hepáticas. Irish & Jaques retomando a questão e utilizando o dicumarol sintético verificaram com doses baixas (10 mg./kg.) aumento do fibrinogênio e com doses mais elevadas (18 a 20 mg./kg.) diminuição sensivel nos 3 primeiros dias, voltando ao normal no 4.º e 5.º dias (2). Essas experiências foram feitas em cães. Concluiram estes autores que as doses pequenas estimulam o fígado ao passo que as doses elevadas produzem lesões semelhantes às das toxinas hepáticas. Lesões hepáticas foram também referidas por Bringham, Meyer & Pohle em cães tratados cronicamente com o dicumarol. Rose, Harris & Chen, estudando a toxicologia desta droga em diversos animais, observaram em ratos o aparecimento de necrose central do fígado (5).

[1] Recebido para publicação a 19 de Novembro de 1947.

No decorrer de estudos sôbre a ação de várias drogas sôbre a excreção de coproporfirinas pela urina tivemos ocasião de notar que o dicumarol é capaz de aumentar a coproporfirinúria. Como nas doenças hepáticas sobretudo de origem tóxica (chumbo, arsenico, álcool, sulfamidas) a excreção de porfirinas acha-se muito aumentada servindo mesmo de índice do funcionamento hepático, cremos que na intoxicação pelo dicumarol a coproporfirinúria também possa refletir as modificações do funcionamento do fígado.

EXPERIMENTAÇÃO

Foram usados coelhos machos, brancos, e pesando de 1800 a 2200 g. O dicumarol foi ministrado por via bucal por meio de sonda gástrica. A urina colhida estando os coelhos em gaiolas individuais de metabolismo com dispositivo especial para evitar a contaminação dos alimentos e das fezes. Nos períodos finais da intoxicação os animais dificilmente eliminam toda a urina, sendo então necessário colher esta com sonda. Nestes casos os volumes de 24 horas representam a urina eliminada expontaneamente e retirada por sondagem.

Os coelhos uma semana antes da experiência foram mantidos em dieta composta de cenouras, abóbora, batata doce, couve, aveia e capim e a pesagem dos animais feita diàriamente.

QUADRO I

Dicumarol 100 mg. dose única

COELHOS	COPROPORFIRINAS EM γ							
	Antes		24 horas		48 horas		72 horas	
13	3.0	3.5	7.2	8.0	6.0	3.6	2.0	1.3
14	7.8	8.5	12.4	11.6	3.2	2.6	3.6	3.0
23	8.2	8.0	11.0	12.6	12.0	7.8	7.6	7.6
24	6.8	7.0	7.2	7.1	6.8	6.8	6.4	10.4
27	5.2	5.8	6.0	8.9	5.6	6.2	2.4	3.6

1a. coluna coproporfirinas em 100 ml. de urina.
2a. coluna coproporfirinas em 24 horas.

Os coelhos que tomaram acima de 50 mg. em dose única ou fracionada (10 mg. diários) morreram no prazo de 8 a 10 dias, apresentando hemorragias generalizadas com derrames cavitários.

A dosagem da coproporfirina foi feita pela técnica de Schwartz, Hawkinson, Cohen & Watson e as leituras da fluorescência feitas no aparelho de Pfalz & Bauer. Utilizou-se a coproporfirina (tetra-metil ester) para estabelecer a curva padrão conforme foi referido no nosso trabalho anterior (6).

QUADRO II

Dicumarol 20 mg. (em duas doses de 10 mg.) e uma dose de 100 mg. no 3.° dia

COELHOS	COPROPORFIRINAS EM γ								
	Antes		24 horas		48 horas		72 horas		96 horas
28	1.0	2.9	1.0	1.4	6.0	2.6	6.6	2.0	0.6–0.8
31	1.6	4.1	3.1	2.9	9.0	2.7	8.4	2.1	1.4–4.2
32	1.1	3.3	2.0	2.8	6.2	3.9	5.8	4.6	0.6–1.6

1a. coluna coproporfirinas em 100 ml. de urina.
2a. coluna coproporfirinas em 24 horas.

Em geral as dosagens foram feitas tomando-se amostras de 50 ml., exceto nos casos de pequenas eliminações urinárias em que se empregaram 30 ml.

Nos quadros I, II e III vêm-se os dados calculados em 100 ml. e em 24 horas.

QUADRO III

Dicumarol 10 mg. diarios = 40 mg.

COELHOS	COPROPORFIRINAS EM γ							
	Antes		24 horas		48 horas		72 horas	
2	2.0	1.0	4.4	6.0	6.0	12.4	11.4	3.8
3	5.2	5.1	4.0	8.0	3.8	5.3	22.8	13.6
5	6.2	10.5	3.0	5.7	6.2	7.6	22.8	22.8

Coproporfirinas em microg. em 100 ml. (I coluna) e 24 horas (II coluna).

Bem que a porfirinúria apresente variações no animal normal verifica-se que nunca são tão acentuadas quanto as obtidas na intoxicação pelo dicumarol. A diferença é significativa se a dose é ministrada uma só vez ou durante vários dias (intoxicação crônica).

Uma dose única (10 mg.) em geral faz baixar a eliminação de coproporfirina ao passo que a dose única de 100 mg, e as doses repetidas tendem a aumentar gradativamente a excreção das coproporfirinas (Quadros I e III). Si as doses são repetidas por vários dias verifica-se baixa brusca da porfirina da urina no dia anterior à morte do animal (Quadro II).

Esses resultados falam a favor de uma disfunção hepática mas que só é verificada quando as doses são elevadas e muito acima daquelas geralmente usadas na terapêutica humana.

SUMMARY

Coproporphyrinuria in rabbits intoxicated with dicoumarol

The AA. have shown that one single dose of 3,3-methylenebis (4-hydroxycoumarin) (100 mg.) is able to increase the excretion of coproporphyrin in the urine of rabbits. Repeated dosages of 10 mg. until a total of 120 mg. have the same effect. In the other hand, small amounts of 10 mg. given in a single dosage decrease slightly the coproporphyrinuria.

These results confirm the opinion of previous workers that dicoumarol has some toxic effect on liver, although the dosages are much higher than those usually used therapeutically.

BIBLIOGRAFIA

1. Emmel, V. M. & Dam, H., 1944, Absence of liver damage in chicks, hypothrombinemia due to vitamin K deficiency or ingestion of 3,3-methylenebis (4-hydroxycoumarin). *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 56 : 11-14.

2. Irish, U. D. & Jaques, L. B., 1945, The effect of dicoumarol upon plasma fibrinogen. *Amer. J. Physiol.*, 143 : 101-106.

3. Link, K. P., 1944, The anticoagulant from spoiled sweet clover. *Harvey Lectures*, 39 : 163-217.

4. Rocha e Silva, M., 1943, Estudos sobre a dicoumarina — 3,3'-metilenobis (4-hidroxicoumarina). *Arch. Inst. Biol.*, 14 : 293-309.

5. Rose, C. L., Harris, P. N. & Chen, K. K., 1942, Toxicity of 3,3'-methylenebis (4-hydroxycoumarin). *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 50 : 228-232.

6. Villela, G. G., 1947, Sôbre a eliminação normal de porfirinas na urina. *Rev. Brasil. Biol.*, 7 : 453-460.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 61-62
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

UTILISAÇÃO DO SAPO MACHO "BUFO MARINUS" (L.), NO DIAGNÓSTICO BIOLÓGICO DA GRAVIDÊS

(Nota prévia) [1]

F. C. DE VASCONCELLOS
Faculdade de Farmacia e Odontologia, S. Paulo

e

A. T. LEÃO
Instituto Butantan, S. Paulo

Houssay & Gonzalez em 1929 verificaram ser possível provocar nos sapos a eliminação dos espermatozóides com a administração de hipófise desses animais. De Robertis e col., em 1945, estudaram o mecanismo da eliminação dos espermatozóides do sapo pela urina sob a ação da hipófise. Mainini, em 1947, baseado nesses conhecimentos, aplicou para o diagnóstico da gravidês, o princípio da liberação dos espermatozóides injetando urina gravídica em macho de *Bufo arenarum* Hensel.

Injetamos urinas de mulheres grávidas em machos de *Bufo marinus* (L.), a fim de verificar si esse sapo, muito comum entre nós, poderia servir para o diagnóstico da gravidês.

MATERIAL E METODOS

Os sapos utilisados eram machos de *Bufo marinus* (L.) pesando de 80 a 150 g.

As urinas provinham de mulheres certamente grávidas e não grávidas. Foi usada a primeira micção da manhã colhida sem assepsia que eram injetadas, às vezes após o tratamento pelo éter e outras vezes não eram tratadas.

As dóses empregadas foram variáveis, de 1 a 10% em função do pêso do animal. As inoculações eram feitas injetando debaixo da péle (saco linfático), na região ventral. De 10 em 10 minutos, com uma pipeta introduzida na cloaca, era retirada pequena porção de urina. Esta era examinada imediatamente em preparação a frêsco com aumento de cerca 100 x. A reação era positiva quando encontrava-se mais de 4 espermatozóides por campo. Em geral o número era muito mais elevado não deixando lugar para dúvidas.

[1] Recebido para publicação a 22 de Novembro de 1947.
Comunicação feita à Sociedade de Biologia de S. Paulo em 8/10/1947 e à secção de Ginecologia da Associação Paulista de Medicina em 28/10/1947.

Antes de injetar a urina era feito um contrôle a fim de afastar a hipótese de uma eliminação espontânea de espermatozóides, eventualidade que nunca verificámos.

Os contrôles em coelhas foram feitos com as mesmas urinas e pela técnica classica de Friedmann- Thales Martins.

RESULTADOS

Reações positivas (Urinas de pacientes certamente grávidas)

Controladas em coelhas e concordantes	36	
		58
Não controladas em coelhas	22	
Reações negativas		
Controladas em coelhas e concordantes	20	
		24
Não controladas em coelhas, porém urinas de homens e crianças	4	
Reações discordantes		
Urinas de mulheres certamente grávidas com reação positiva em coelha e negativa em sapo	2	2
Total		84

A eliminação de espermatozóides em alguns casos iniciou-se 20 minutos após a injeção. Quase todos eliminavam até a segunda hora. Os que não respondiam até a terceira hora não davam mais reação positiva, embora observados até 24 horas depois.

DISCUSSÃO

As discordâncias, em número de duas, foram só no sentido de positiva em coelha e negativa em sapo. Esses sapos responderam positivamente quando injetados com outras urinas gravídicas. As urinas que apresentavam essa peculiaridade não davam reações positivas mesmo quando injetadas em sapos previamente verificados como respondendo bem às provas. Ambas essas urinas eram de mulheres no 5.º mês de gestação.

CONCLUSÕES

O *Bufo marinus* (L.) quando injetado com urina de mulheres grávidas, elimina espermatozóides dentro de um prazo de poucas horas, prestando-se para o diagnóstico da gravidês.

Não há eliminação de espermatozóides quando se injeta urina não gravídica. Porém certas urinas gravídicas que dão reação positiva em coelha podem dar resultado negativo no *B. marinus*. As razões dessa discordância não foram investigadas.

A' essa reação que apresenta grandes vantagens práticas, denominamos *Bufo-reação para a gravidês*.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 63-68
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

RETRAÇÃO NORMAL DO COÁGULO SANGUÍNEO. COEFICIENTE DE CORREÇÃO E ÍNDICE DE RETRAÇÃO [1]

G. ROSENFELD e L. A. POMPEO DE CAMARGO
Instituto Butantan, S. Paulo — Campinas, S. Paulo

Em geral a retração do coágulo sanguíneo é apenas verificada qualitativamente não se aproveitando assim um dado de valor para estudar a capacidade funcional das plaquetas já que a retração depende desses elementos.

Independentemente da importância da medição da retração do coágulo para certas investigações, ela é de utilidade para necessidades clínicas, substituindo a contagem de plaquetas por ser de execução muito mais fácil. Desde que a retração seja normal, pode ser afirmado que as plaquetas são funcionalmente normais e suficientes. Com esse critério, muito mais preciso do que os até agora adotados para isso, ROSENFELD & MENDES (2) determinaram o número crítico das plaquetas, abaixo do qual aparecem os fenômenos hemorrágicos.

Apesar de todas as vantagens da medição da retração do coágulo ela quase não é utilisada, apesar de haver métodos descritos há muitos anos. Isso é devido em grande parte a que a quase totalidade dos tratados de hematologia não se refere a esses métodos, apenas citam as verificações qualitativas que são muito precárias.

Dos métodos de medição de retração do coágulo sanguíneo, os mais simples são o de MACFARLANE (1) e o de ROSENFELD (3). O último não exige nenhum material especial nem quantidade determinada de sangue, sendo muito facil de ser executado como exame de rotina.

No presente trabalho foi determinado pelo método de ROSENFELD (3), a retração do coágulo em indivíduos normais e também em doentes com moléstias que não afetam a coagulação, a fim de verificar si nestes

[1] Recebido para publicação a 22 de Novembro de 1947.

eram obtidas cifras normais, o que teoricamente seria de esperar por não estarem afetadas as plaquetas. Foi também estudada a retração na 3.ª e 24.ª hora a fim de verificar si realmente a retração atinge o máximo após 3 horas de permanência a 37° como afirma ROSENFELD (3). Para ser utilisada em casos de anemia e poliglobulias é apresentada uma fórmula de correção da leitura da retração, em função do volume globular. Também é apresentado um índice de retração que vem facilitar a interpretação dos resultados.

MATERIAL E MÉTODOS

O primeiro grupo era constituido por 37 individuos normais, do sexo masculino, estudantes de medicina e médicos sem história de qualquer moléstia atual ou recente. O segundo grupo era constituido de 83 doentes do sexo masculino, escolhidos entre outros por não apresentarem moléstias que afetam a coagulação nem produzem modificações dignas de nota no quadro sanguíneo.

O método utilisado para a medição da retração do coágulo, em todos os seus detalhes foi o de ROSENFELD (3). O sangue era retirado da veia com seringa seca, e sem determinar exatamente o seu volume (em geral usamos cerca de 10 ml.), era posto em tubo esteril e fechado com rolha de borracha a fim de evitar evaporação de sôro. Evitava-se sempre a espuma do sangue que é causa de erro na medição. Os tubos eram colocados na estufa a 37.°, no fim de 3 horas era feita uma leitura e outra na 24.ª hora, esta última não faz parte do método porém foi feita para verificar uma possivel variação após esse prazo. A leitura era feita ao se retirar o tubo da estufa, despejando-se o sôro, num pequeno provete bem graduado. Depois de medido o volume do sôro, despejava-se também o coágulo a fim de ter o volume total de sangue utilisado na prova. A retração era representada pela percentagem de sôro em relação ao volume de sangue:

$$(R\%)\ \text{Retração}\ \% = \frac{\text{ml. de sôro x } 100}{\text{ml. de sangue}}$$

A fim de evitar que o coágulo ficasse aderente às paredes do tubo, alguns minutos depois de coagulado o sangue, com uma alça de platina descolava-se o coágulo do tubo. Em geral o coágulo só fica aderente quando o tubo não está bem limpo ou não é de boa qualidade. Quando isto acontece e é notado no momento de fazer a leitura, basta descolar e deixar mais 3 horas a 37.°.

Não foi levado em conta o volume de sangue empregado, nem o diâmetro ou forma do tubo, pois não têm influência (3).

TABELA

DESIGNAÇÃO	1.º GRUPO (Normais)		2.º GRUPO (Doentes)	
	Retração %		Retração %	
	3 horas	24 horas	3 horas	24 horas
Número de indivíduos	37	37	83	83
Média	49,32	48,19	48,65	47,51
Êrro padrão da média	0,75	0,66	0,67	0,62
Desvio padrão	4,29	4,05	6,14	5,68
Coeficiente de variação	8,7	8,4	12,6	11,9

RESULTADOS

A tabela representa a média dos resultados obtidos sem correção em função do volume globular.

Em 37 indivíduos normais do sexo masculino, a retração do coágulo sanguíneo foi 49,32% ± 0,75, os valores limites encontrados foram 40,0% e 57,57%. Nos 83 doentes do sexo masculino com moléstias que não afetam a coagulação, a média foi 48,65% ± 0,67, portanto dentro do erro padrão da média dos casos normais, e estatisticamente igual à média normal.

Nos dois grupos, as leituras das 24 horas foram praticamente iguais às das 3 horas, que é o tempo recomendado no método adotado.

DISCUSSÃO

O valor que encontramos para a retração do coágulo em individuos normais pelo método de Rosenfeld, foi de 49,32% enquanto Macfarlane (1) pelo seu método encontrou em 50 individuos normais uma média de 54,72%. O grupo de individuos utilisado por esse autor era um pouco maior do que o nosso, porém essa não deve ser a razão da diferença, pois que no nosso segundo grupo com 83 individuos, que era bem maior, a média obtida, 48,65% é praticamente igual à do primeiro confirmando a viabilidade do valor encontrado por nós como normal. O fato de termos feito a prova sòmente em homens enquanto Macfarlane a fez nos dois sexos, provàvelmente não explica a diferença. Seria preciso que nas mulheres a retração fosse muito maior para num número relativamente pequeno modificar a média com tal intensidade, e valores tão desiguais nos dois sexos teriam chamado a atenção e seriam assinalados.

A média de 54,72% encontrada por Macfarlane nos parece um pouco elevada si considerarmos que normalmente, em média após uma centrifugação energica, 45% do volume é ocupado pelos glóbulos e há somente 55% de

sôro. Essa quantidade é pràticamente igual ao valor dado por MACFARLANE, isto equivaleria a dizer que a retração do coágulo se equipara a uma centrifugação enérgica e demorada como a que se usa para determinar o volume globular no sangue, o que é já à primeira vista pouco provável. Os nossos resultados fazem concluir que cerca de 6% de sôro fica retido no coágulo normal no máximo da retração, o que junto com o volume de 49,32% do sôro obtido pela retração e 45% ocupados pelos glóbulos perfaz o volume total do sangue.

A retração não aumentou depois de 3 horas pois que a leitura das 24 horas mostra que pràticamente não houve variação. A pequena diminuição foi certamente devida à pequena perda de sôro que ficou no provete na primeira leitura. Essa falta de aumento da retração nas 24 horas vem confirmar que na temperatura de 37° a leitura final pode ser feita após 3 horas conforme a técnica preconisada por ROSENFELD (3).

Nota-se pelos resultados que, si bem que a média do 2.° grupo tenha sido praticamente igual à do primeiro, o coeficiente de variação foi um pouco maior. Isso foi devido provàvelmente a maiores diferenças do volume globular nesse grupo, o que era de esperar pois apesar de suas moléstias não modificarem diretamente o número de hemátias, devido a suas condições anormais alguns haveria que apresentavam pequenas diminuições do volume globular e nos resultados não foram feitas correções em função desse último dado.

No caso da retração do coágulo parece que não se podem considerar como pertencentes ao normal, todos os valores das médias acrescidos ou diminuidos de 3 vezes o desvio padrão. Não só a experiência demonstra que esses valores não foram encontrados nos indivíduos normais (os valores limites encontrados nos normais oscilam dentro de $\pm 2\sigma$, o menor foi de 40% e o maior de 57,57%), como também oscilações dessa amplitude só poderiam ser achadas em sangue patológico. Para uma retração de $M + 3\sigma = 62{,}19\%$, seria preciso, sem retenção de sôro no coágulo, o que é teórico, um volume globular de 37,81% que já é nitidamente patológico. Aliás, esses valores maiores absolutos desaparecem quando corrigidos em função do volume globular.

Sempre há uma pequena quantidade de glóbulos no sôro liberado, nos nossos dados não descontamos esse volume. Há alguns casos em que o retículo de fibrina deixa passar muito maior quantidade de hematias o que pode acarretar grandes erros; são casos patológicos ainda não bem interpretados. Pode-se fazer uma correção centrifugando o sôro a 3.000 rpm durante 15 minutos a fim de descontar do volume de sôro a quantidade ocupada pelos glóbulos.

Retração corrigida — Para maior exatidão dos resultados é conveniente corrigir em função do volume globular, o valor achado para a retração do coágulo, pois é lógico que quanto menor é o volume globular, maior será a quantidade de sôro independente de uma retração maior. Esta pode dar cifras normais em casos de anemias e, no entanto na realidade ser deficiente si

o volume globular estiver diminuido. Já MACFARLANE (1) se refere a essa correção sem indicar o cálculo. Ela é obtida pela seguinte fórmula:

$$\text{Retração corrigida (Rc\%)} = R\% \times \frac{\text{Volume globular do caso}}{\text{Volume globular normal}}$$

Indice de retração — O indice de retração representa a relação entre a retração do caso em estudo e a retração normal, tem a vantagem de objetivar melhor o resultado. E' obtido dividindo a retração achada pela retração normal. Pode ser feita com a retração não corrigida porém em casos de alteração do volume globular é necessário usar a retração com correção.

$$\text{Indice de retração (Ir)} = \frac{\text{Retração do caso}}{\text{Retração normal}} \text{ ou } \frac{\text{Retração do caso}}{49}$$

Resultados normais — Os dados que podem ser considerados normais pelo método de ROSENFELD, são os seguintes:

	Retração %	Indice de retração
Media	49,32	1,0
Minimo (M − 2 σ)	40,74	0,82
Maximo (M + 2 σ)	57,90	1,17

Esses dados foram obtidos sem correção para o volume globular por terem sido obtidos em individuos normais com as variações normais do volume globular, podem portanto servir de referência para dados corrigidos indispensáveis em casos de anemias ou poliglobulias.

RESUMO

Foi determinada a retração do coágulo sanguíneo pelo método de ROSENFELD em 37 individuos normais do sexo masculino. E' apresentada a fórmula para correção em função do volume globular (Rc), para casos de anemias ou poliglobulias. E' indicado um índice de retração (Ir) para melhor avaliação da retração em relação ao normal. Os dados obtidos, em número redondo foram os seguintes: Retração normal = 49%, minima (M − 2σ) = 40%, maxima (M + 2σ) = 58%. Indice de retração: 1,0, minimo 0,8, maximo 1,2.

Os resultados em 83 individuos do sexo masculino com moléstias que não afetam a coagulação, foram estatisticamente iguais aos dos normais.

Foi verificado que a retração atinge o máximo em 3 horas de permanencia a 37°, pois os resultados após 24 horas foram iguais.

SUMMARY

The blood clot retraction was determined in 37 normal males by Rosenfeld method. Authors give the formula of correction (Rc) in function of the volume of packed red cells, to be employed in cases of anemia and polycythemia. A "retraction index" (Ir) is established for better checking the values of clot retraction in relation to the normal figures.

The observed values where approximately the followings: normal clot retraction = 49%, minimum $(M - 2\sigma) = 40\%$, maximum $(M + 2\sigma) = 58\%$. Normal retraction index: 1,0 (0,8 – 1,2).

In 83 males with discases dont alter the blood coagulation, the results where the same as in the normal individuals, as could be proved by statistical methods.

The maximum retraction was observed after 3 hours at 37°, the retraction after 24 hours was the same.

BIBLIOGRAFIA

1. Macfarlane, R. G., 1939, A simple method for measuring clot-retraction, *Lancet*, 236: 1199-1201.
2. Rosenfeld, G. & Mendes, F. T., — Comunicação pessoal.
3. Rosenfeld, G., 1941, Retração do coagulo sanguineo; nova tecnica para a sua medição; estudo de diversos fatores, *Rev. Clin. S. Paulo*, 10 (2): 43-49.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 69-72
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

"MEGALOPODIDAE" NEOTROPICAIS. DESCRIÇÃO DE UM NOVO GÊNERO E NOVAS ESPÉCIES (Col.) [1]

JACINTHO GUÉRIN

(Com 3 figuras no texto).

Mastosthethus Lacord.

1. *Mastosthethus costaricensis* n. sp.

(Fig. 1)

Comprimento 10 mm.; largura 5,5 mm.

Corpo robusto, sub-quadrado, restringido posteriormente, pouco convexo, preto brilhante na parte inferior, vermelho sanguíneo uniforme, na superior.

Fig. 1 — *Mastosthethus costaricensis* n. sp.; fig 2: *Agathomerus Nicki* n. sp.; fig 3: *Nickimerus setosus* n. sp.

Cabeça vermelha, com uma larga faixa testáceo clara sôbre o epístoma, o sulco transversal entre as antenas, largo, reto e profundo. Lisa e brilhante com

[1] Recebido para publicação a 18 de Agosto de 1947.

um grupo de poucos pontos na proximidade dos olhos. Antenas do comprimento do pronoto, pretas, com o primeiro artículo avermelhado.

Pronoto uma e meia vez mais largo que comprido, de lados retos, base levemente arqueada, pouco convexo, vermelho sanguineo brilhante com alguns finíssimos pontos superficiais muito esparsos. Escutelo grande, agudo, pontuado da côr do pronoto. élitros subplanos restringidos posteriormente, mais largos que o pronoto na base, com úmeros salientes, pontuação superficial e espaçada, uniformemente vermelho sanguíneo brilhante.

Parte inferior do corpo preta, apresentando algumas cerdas douradas e espaçadas, no metasterno, aneis abdominais e fêmures.

Pernas fortes, as tíbias arqueadas e quadricarenadas.

Holótipo (N.º 17630) e um *parátipo* (N.º 17596), procedentes de Guapilés, Costa Rica, Dr. A. Bierig col. 2-1946, na coleção do autor.

Agathomerus Lacord.

1. *Agathomerus basalis* Pic.

O *A. nobilis* var. *cyaneonotatus* Güerin, publicado em 1943, na *Rev. Brasil. Biol.*, 3 (3) : 309 é sinônimo da espécie supra que foi publicada em *Melanges Exotiques Entomologiques Moulin*, 1916, fasc. 19, p. 20.

2. *Agathomerus Nicki* n. sp.

(Fig. 2)

Comprimento 8 mm.; largura 3 mm.

Corpo alongado e paralelo, de côr uniformemente ferrugínea bastante brilhante, a pubescência reduzida a poucas cerdas avermelhadas erectas e espaçadas.

Cabeça com a região do epístoma e toda a área entre os olhos grossamente pontuada, lisa e brilhante no resto de sua superfície, da côr do corpo com uma grande mancha triangular occipital preta, uma alongada entre os olhos e outra pequena no meio da fronte, na altura do ponto de inserção das antenas. Antenas de um terço do comprimento do corpo, pretas, com a base do primeiro artículo testáceo ferrugínea.

Pronoto convexo com sulcos anterior e basal fortes, apresentando alguns pontos aciculados espaçados e duas fossetas longitudinais discais de fundo enegrecido. Escutelo preto brilhante. élitros subplanos, paralelos, fortemente pontuados, com duas carenas longitudinais que dos angulos umerais alcançam o ápice.

Parte inferior um pouco mais clara que a côr geral do corpo, com os tarsos posteriores pretos, uma mancha redonda na parte inferior do pronoto e outra igual na placa lateral do metasterno.

Holótipo (N.º 17813), Taipas, São Paulo, na coleção do autor.

Nickimerus n. g.

Corpo curto, convexo, paralelo, pubescente.

Cabeça com olhos grandes, alongados; epístoma amplamente semicircular. Antenas do comprimento da metade do corpo, com o 3.º e 5.º artículos iguais e mais compridos que o 4.º, os demais subiguais entre si.

Pronoto no dobro mais largo que comprido, com sulcos transversais basal e anterior. Bordas lateralmente dilatadas em forma de triângulo arredondado. Escutelo truncado. Élitros subparalelos, cobrindo parcialmente o pigídio. Metasterno estreito, vestigial.

Pernas curtas e fortes; tíbias retas.

Genótipo: N. setosus n. sp.

O novo gênero é muito próximo de *Colobaspis* Fairm., da fauna africana e tibetana, e de *Barticaria* Jac. da fauna americana. Difere dos dois pela forma peculiar da saliência lateral do pronoto e pelas pernas inermes.

1. *Nickimerus setosus* n. sp.

(Fig. 3)

Comprimento 6,5 mm.; largura 3,2 mm.

Corpo curto, paralelo, ferrugíneo, quase que totalmente coberto de espessa e comprida pubescência dourada.

Cabeça com um profundo sulco arqueado entre as antenas, da côr do corpo, um pouco escurecida na região occipital. Antenas pretas com os dois primeiros artículos castanho escuro.

Pronoto fortemente transversal, com sulco basal profundo e o anterior formando um amplo rebordo convexo; lados projetados externamente numa saliência larga e subarredondada. Escutelo truncado, castanho escuro. Élitros mais largos que o pronoto na base, paralelos, regularmente convexos transversal e longitudinalmente, apresentando uma carena glabra ao longo da sutura, o resto de sua superfície coberto de espessa pubescência dourada que lhe confere aspecto uniformemente sedoso.

Parte inferior do corpo ferrugínea, levemente brilhante, menos pubescente que a superior, com pernas fortes e curtas; fêmures posteriores fortemente engrossados; tíbias retas, castanho escuras, com tarsos pretos.

A farta pubescência que cobre todo o corpo não permite avaliar em ponto algum o tipo e a importância da pontuação.

Holótipo (N.º 17203), Sto. Amaro, São Paulo, H. Nick col., Jan. 1944, na coleção do autor.

O novo género e a nova espécie de *Agathomerus*, que o precede, são uma sincera homenagem ao Dr. H. Nick, entomólogo de São Paulo, que mui gentilmente forneceu ao autor o material descrito.

SUMMARY

Two new species of *Megalopodidae, Mastosthethus costaricensis* from Costa Rica and *Agathomerus Nicki* from Brasil and a new genus, *Nickimerus* with his genotypus, *N. setosus* from Brasil, are described in the present paper.

All types and paratypes are conserved in the author's private collection.

BIBLIOGRAFIA

Bates, H. W., 1866, *Cat. Phyt. App. (Coleoptera Pseudotetramera) Megalopodidae*, Part 1 : 42-50.

Guérin, J., 1943, Novos Megalopodidae (Col.) do Brasil. *Rev. Brasil. Biol.* 3 (3) : 301-312.

Lacordaire, M. T., 1845, Monographie des Coleopteres Subpentameres Phytophages. *Mem. Soc. Roy. Sci., Liege*, 1.

Monrós, F., 1945, A propósito de algunos Chrysomeloidae Neotropicales. *Notas Mus. La Plata*, 10 : 143-155.

Pic, M., 1916, *Melanges Exotiques Entomologiques. Moulin*, 19 : 20

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 73-75
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

DUAS ESPÉCIES NOVAS DO GÊNERO "BESLERIA" (Fam. Gesneriaceae) [1]

A. C. BRADE
Jardim Botânico, Rio de Janeiro, D.F.

(Com 10 figuras no texto)

Em uma revisão do gênero *Besleria*, C. V. MORTON enumera 133 espécies. Especialmente rica em espécies é Costa Rica, onde 21 são assinaladas. As restantes estão espalhadas na região neotropical. Para o Brasil achamos indicadas apenas 10 espécies, número que se eleva, com as duas abaixo descritas, a 12 ; provavelmente poderemos constatar ainda mais quando forem melhor exploradas as regiões dos Estados Espírito Santo e Bahia especialmente.

Todas as representantes da nossa Flora pertencem à secção de *Eubesleria*. A subsecção *Pedunculatae* é representada na região Amazônica por 2 espécies ; a subsecção *Confertae* tem a sua dispersão especialmente na região Leste meridional, onde temos 7 espécies, só 1 espécie percorre a região Amazônica ; o mesmo podemos dizer da Subsecção *Elongatae*, da qual são representadas 3 espécies na região Leste meridional e 1 na região Amazônica.

As espécies de *Besleria* são marcadas pelos cálices de côr viva, clara, geralmente amareladas e mais vistosas do que as corolas da mesma côr. *Besleria macahensis* n. sp. é a primeira espécie do Brasil dotada de cálice de côr roxa.

Besleria fluminensis Brade n. sp.

(Figs. 1-5)

Caule subfruticoso, subsimplice, quadrangulare sulcato, apice cum petiolis et pedicellis puberulo, demum glabrescente ; *foliis* ovatis, acuminatis, basi ob-

[1] Recebido para publicação a 18 de Novembro de 1947.

tusis, rotundatis vel subcordatis, longe petiolatis, supra vix pubescentis mox glabrescentis, subtus, praecipue ad nervis, puberulis, margine inaequaliter acute repandato-serratis, puberule-ciliatis, 20-25 cm. longis, 11-14 cm. latis, nervis primariis 10-12 utrinque, petiolo usque ad 18 cm. longo; *pedicellis* in

Besleria fluminensis n. sp. — Fig. 1: Hábito; fig. 2: flor; fig. 3: corola estendida; fig. 4: cálice estendido; fig. 5: ovário com pistilo.

axillis foliorum aggregatis, florem brevioribus, circiter 1 cm. longis; *calycis* laciniis, lanceolatis, liberis, integris, acutiusculis, flavis, dorso carinatis extus tenuiter puberulis, 15-18 mm. longis, 3-4 mm. latis; *corolla* tubulosa, calyce paulo longiore, 20-22 mm. longa, luteola, extus tenuiter puberula, lobis patulis, triangularibus, obtusis subaequalibus; *ovarium* glabrum; *discus* annularis glaber.

Habitat — Brasilia, Estado do Rio de Janeiro: Angra dos Reis, Jussaral, 400 m. sôbre o nível do mar. Legit. A.C. Brade N.º 14 925, 29 de junho de 1935. Typus: Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, N.º 28 566.

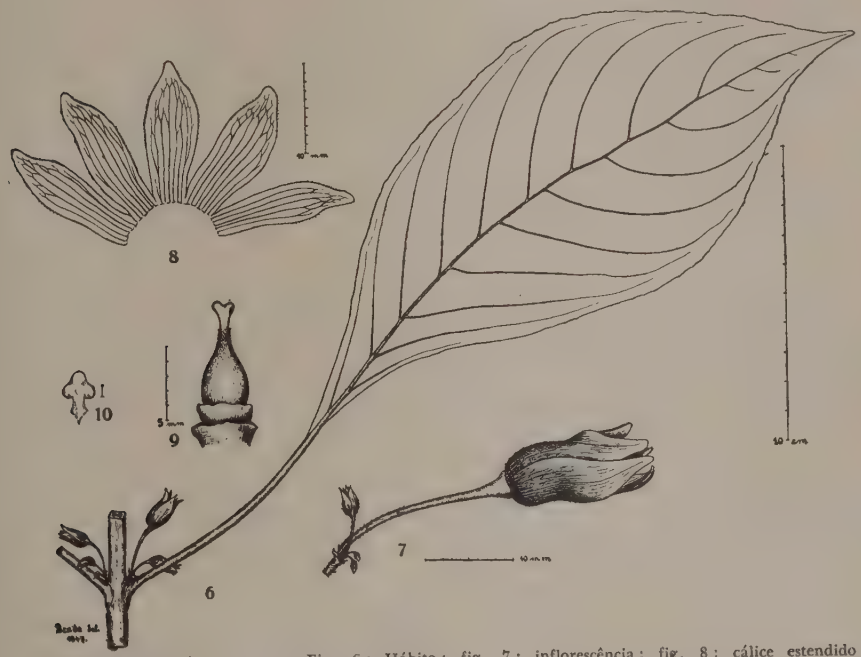
Distingue-se de *Besleria meridionalis,* que também possue as folhas com margem serrilhada, pela outra forma da lâmina, nervos primários mais numerosos e corola puberula.

Besleria macahensis Brade n. sp.

(Figs. 6-10)

Caule subfruticoso, simplice, quadrangulare glabro apice sparse pilosulo; *foliis* herbaceis, ovato-lanceolatis, acuminatis, basi longe in petiolum attenuatis,

longe petiolatis, subintegris tenuiter sparseque ciliatis, circiter 20 cm. longis, 7-10 cm. latis, supra glabris vel ad nervis sparsissime adpresse strigosis, subtus tenuiter, ad nervis crebriore, adpressa pilosis, nervis primariis 8-9 utrinque; *petiolo* 5-10 cm. longo glabro vel sparsissime adpresse piloso; *pedunculis* brevissimis, in axillis foliorum, paucifloris, pedicellis 1-1,5 cm. longis, glabriusculis vel sparse pilosis; *calyces* laciniis liberis, ovato-lanceolatis, ciliatis, extus tenuiter pilosulis, 15-16 mm. longis, 4-6 mm. latis, purpureis; *corolla* perfecta ignota, glabra, ? luteola; *ovarium* apicem versus pilosum; *discus* annularis, glaber.



Besleria macahensis n. sp. — Fig. 6: Hábito; fig. 7: inflorescência; fig. 8: cálice estendido; fig. 9: ovário com pistilo; fig. 10: estaminodio.

Habitat — Brasilia, Estado do Rio de Janeiro, Frade de Macaé, 400 m. sôbre o nivel do mar, na mata primária. Legit A.C. Brade N.º 15 851, 19 de junho de 1937. Typus: Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro N.º 34 044.

Esta espécie é diferenciada entre todas as espécies conhecidas do Brasil, pelos cálices de côr roxa viva. Infelizmente, não achamos, na ocasião da colheita do material, nenhuma flor perfeitamente aberta e por isso não pudemos indicar a côr da corola, entretanto, supomos que seja amarelada.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 77-86
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

NUEVA TÉCNICA DE MICRO-REACCION PARA LA SIFILIS CON EL ANTIGENO DE MEINICKE M. K. R. II [1]

ARQUIMEDES CANESE y MARIA ISABEL PECCI
Instituto de Higiene, Asunción, Paraguay

(Con 6 figuras)

Desde mediados del año pasado (1946), venimos realizando en forma esporádica por falta de medios, una nueva técnica de micro-reacción para la Sífilis, con el antígeno de Meinicke M.K.R.II (antígeno para la Reacción de Clarificación), que expondremos en la presente comunicación.

En todas las micro-reacciones que hasta la fecha hemos experimentado, siempre tropezabamos con la dificultad en la lectura de las reacciones de baja positividad (una cruz), y su diferenciación de las dudosas y negativas, tanto es así, que por lo general no le asignabamos mayor valor, a estas positivas bajas y dudosas.

Desde que empezamos a usar el antígeno de Meinicke, y la técnica que describiremos luego para las micro-reacciones, pudimos notar que esa dificultad desaparecía, al menos para nosotros, y que la nitidez en la lectura, nos hacía facil la diferenciación de toda la gama de precipitaciones, yendo desde las fuertemente positivas, hasta las negativas.

No podemos todavía asignarle el verdadero valor que le corresponde, a la reacción en experiencia, por cuanto que su número, y el estudio de los casos clínicos, es todavía escaso ; pero sí podemos entresacar algunas conclusiones de valor, y que son el motivo de esta presentación, dejando constancia que nos ocuparemos de nuevo del problema, efectuando el estudio de un mayor número de casos, en relación con las distintas reacciones reconocidas como de valor (1) y con el control correspondiente de las Clínicas de Sífilis.

[1] Recebido para su publicación en el 5 de Septiembre de 1947.

Resumiremos algunas ventajas de la reacción antes de seguir con el estudio de la misma, estas son :

1) Cantidad de suero necesaria sumamente baja, que puede obtenerse en cualquier paciente (niños o adultos) por punción del dedo.
2) Sencillez del metodo.
3) Facilidad en la lectura de los resultados.
4) Necesidad de un mínimo de elementos para realizarla.
5) Economía, siendo quizás una de las reacciones mas baratas.

También dejamos constancia, que del estudio cuidadoso de la bibliografía que obra en nuestro poder, se desprende, que la reacción que detallamos no ha sido realizada, o al menos publicada hasta la fecha.

TECNICA DE LA REACCION

A) *Material Necesario :*

1.º) Suero del enfermo sin inactivar.
2.º) Solucion de Cloruro de sodio de reciente preparación o estéril al 3,5%.
3.º) Tubos de fondo plano para la mezcla del antígeno (del mismo tamaño que los usados para la R. de Kahn St.) (2)
4.º) Antígeno de Meinicke M.K.R.II de marca conocida.
5.º) Laminas con cámaras excavadas.
6.º) Pipetas de 0,10 ó 0,20 ml., divididas exactamente al 1/1.000.
7.º) Pipetas de 1 ml., divididas al 1/100.
8.º) Varillas de vidrio, portaobjetos o mondadientes.
9.º) Microscopio. Se usa objetivo seco y se efectúa la lectura a un aumento de 100 diametros mas o menos.
10.º) Baño maría regulado a 55 o 56ºC., lo que puede conseguirse en caso de no contar con un regulador electrico, calentando un recipiente adecuado, con una lamparita Bunsen y controlandolo con un termómetro.

B) *Extraccion de la sangre :*

Si se realiza la reacción como rutina, en un centro Serológico en donde se efectuan otras reacciones para la sifilis, el suero necesario (0,02 cc.) se obtiene de las muestras remitidas, antes del calentamiento de las mismas, por cuanto que en esta reacción se trabaja con suero fresco.

Si se desea en cambio practicar la reacción, en niños de pocos meses, o en personas a las que no se les puede extraer sangre de la vena, puede procederse así : previa asepsia de la zona elegida para la punción (talón en los muy pequeños, dedos de la mano o dedo gordo del pié, o bien lóbulo de la oreja), se

la practica con lanceta de bisel ancho, y haciendola penetrar bastante profundamente, de tal manera que la sangre de ser posible, fluya expontaneamente y no por la presión exagerada que realiza el operador. Se recogen 4 a 5 gotas de sangre en tubos bien finos (3 a 4 mm. de ancho por 3 a 4 cm. de largo), o bien en tubos de Kahn. La sangre se deja en reposo el tiempo necesario para que la coagulación se produzca, y expida suero, luego de lo cual está en condiciones de ser centrifugada, en el mismo tubo original en donde se la ha recogido, retirandose a continuación el suero, con el que se realizará la reacción correspondiente. Nosotros siempre hemos obtenido en todos los casos, aún en los pacientes mas pequeños, la cantidad de suero necesaria (0,02 cc.) para realizar la prueba.

C) *Preparacion del Antigeno :*

El antígeno se usa diluído al 1/10 en Suero fisiológico al 3,5%. Para ello se procede en igual forma, que para la Reacción de Clarificación de Meinicke o para la Chediak (3).

Nunca debe prepararse una solución menor de 5 cc. de la mezcla, porque se corre el riesgo de obtener malos resultados, debido a diversos fenómenos coloidales y de superficie (3).

A pesar de esta recomendación del autor del antígeno, nosotros hemos operado muchas veces con cantidades de 0,1 cc. de antigeno y 1 cc. de Cloruro de sodio al 3,5%, con resultados optimos.

Se coloca una parte del antígeno en uno de los tubos de fondo plano, y en otro tubo que es de la misma medida 10 partes de cloruro de sodio al 3,5%.

Se llevan al Baño maría a 55-56.°C. 4 a 5 minutos, con el objeto de equilibrar las temperaturas, al cabo de los cuales se los retira de él, se los seca rapidamente en su parte externa, para evitar que el agua del baño pueda penetrar en los tubos, e inmediatamente se procede a realizar la mezcla, vertiendo primero la solución clorurada sobre el antígeno, y repitiendo la operación de transvasación, por lo menos 6 a 7 veces, a fin de mezclar perfectamente las partes. Se lleva la mezcla al baño maría por 2 minutos nuevamente y a la misma temperatura, con el objeto de obtener la maduración.

El antígeno así preparado debe usarse en el acto, aún cuando nosotros hemos obtenido buenos resultados, hasta después de una hora de su preparación.

D) *Practica de la Reaccion :*

1.°) Colocar en cada una de las cámaras excavadas 0,02 cc. de los distintos sueros frescos de enfermos (cantidad que debe ser medida exactamente con pipeta calibrada al 1/1000).

2.°) A cada una de las muestras agregarle 0,05 cc. de la suspensión del antígeno preparada (tambien debe ser medida dicha cantidad con pipetas al 1/1000).

3.º) Mezclarlos bien con el extremo de una varilla, o el angulo de un portaobjetos, siendo preferible hacerlo con un mondadientes, por cuanto que debe usarse un extremo del mismo para cada reacción, y luego deshecharlo.

4.º) Agitar en forma circular (con el agitador o bien manualmente), durante 4 minutos.

5.º) Proceder a la lectura a un aumento de 100 diametros, con objetivo seco.

E) *Lectura de la Reaccion :*

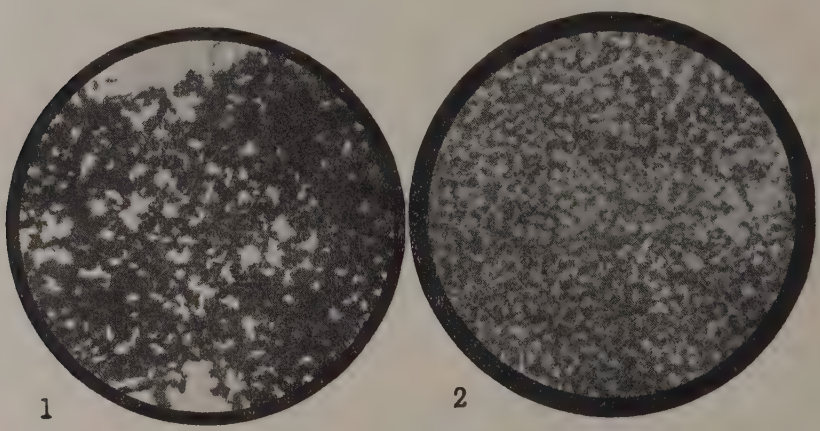
La primera lectura de la reacción la efectuamos, a los 10 minutos de terminada la agitación, tiempo en el cual, la mayoría de las muestras, presentan ya la precipitación que les corresponde.

La segunda lectura la volvemos a efectuar a los 20 minutos, dentro de los cuales obtenemos algunas reacciones positivas que llamamos "tardias", y que a nuestro criterio corresponden todavia a precipitaciones que obedecen a factores específicos (reaginas).

No aconsejamos las lecturas muy tardías (pasado los 30 minutos), porque obtenemos a veces algunas reacciones falsamente positivas, en personas que clinicamente no presentan síntomas de sífilis, según hemos podido comprobar.

En la lectura establecemos la siguiente escala :

1) Precipitación intensa de grumos muy grandes y líquido circundante claro (cuatro cruces) (fig. 1).

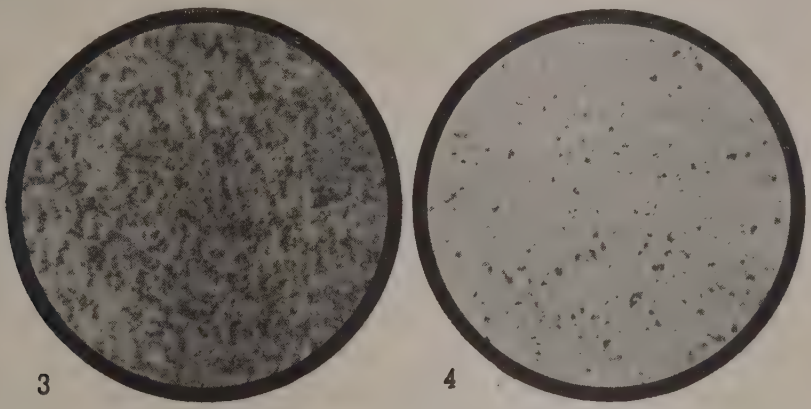


Lectura de la reacción — Fig. 1 : + + + + ; fig.2 : + + + .

2) Preparación intensa pero de grumos menores y mas uniformemente distribuidos, con liquido circundante claro (tres cruces) (fig. 2).

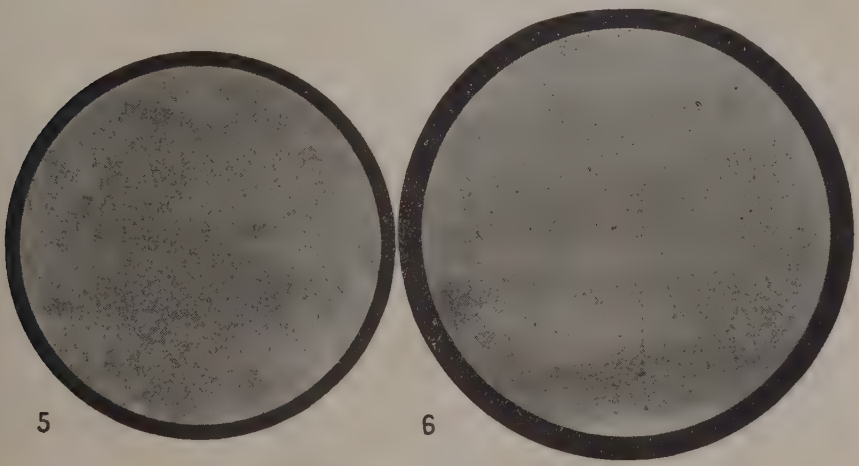
3) Precipitación mediana con grumos pequeños, en menor número, regulares, que toman todo el campo, con liquido circundante claro (dos crutes) (fig. 3).

4) Precipitación fina, y liquida circundante con granulos finos no precipitados (una cruz) (fig. 4).



Lectura de la reacción — Fig. 3 : + + ; fig. 4 : + .

5) Precipitación sumamente fina, muy uniforme, con el resto del campo microscópico tomado por los finos gránulos no precipitados del antígeno (dudosa) (fig. 5).



Lectura de la reacción — Fig. 5 : ± ; fig 6 : —.

6) Campos microscópicos uniformemente tomados, por los finos granulos del antígeno, perfectamente dispersos (Negativa) (fig. 6).

CONTROL DE LA REACCION

En vista de las escasas posibilidades económicas existentes en nuestro medio, hemos realizado el estudio de la reacción que exponemos, en la siguiente forma :

Efectuamos 500 reacciones, controladas simultaneamente con la reacción de Kahn Standard, con la que hemos realizado todas nuestras tablas comparativas. El control con las reacciones de fijación de complemento, y en especial con la de Kolmer (2), será objeto de una nueva comunicación ; así también un estudio mas detallado será hecho posteriormente.

Esta comunicación tiene como unico objeto, llamar la atención a los Centros de Serología, y hacer que en los mismos puedan efectuarse, los controles, con mas rapidez de la que en nuestro medio sería posible.

Las 500 Reacciones se subdividen como sigue :

1) 80 reacciones efectuadas en dispensarios de Sifilis, que las que entresacamos 60, por tener fichas clinicas mas completas.

2) 56 casos de enfermedades infecciosas.

3) 83 muestras obtenidas del Banco Central de Sangre.

4) El resto está compuesto de sangre obtenida de enfermos que concurren a los diversos consultorios del Ministerio de Salud Publica y Previsión Social.

A) *Estudio realizado sobre 60 casos con procesos sifiliticos*

Los casos obtenidos han sido cedidos gentilmente, por el Dr Masi, Director del Dispensario de Venereo-Sifilis del Centro de Salud N.º 1, y por los Drs. Andersen y Vera, del Centro de Salud N.º 3.

El resultado obtenido es el seguiente :

TIPO DE SÍFILIS		REACCIÓN DE LOS AA.						REACCIÓN DE KAHN ST.					
		(---)	(±)	(+)	(++)	(+++)	(++++)	(---)	(±)	(+)	(++)	(+++)	(++++)
Chancro	Sin T.	—	—	—	—	—	3	—	—	—	1	—	2
	Con T.	7	1	2	—	—	1	6	—	—	3	1	1
Período 2.º	Sin T.	—	—	—	1	2	3	—	—	—	2	2	2
	Con T.	2	1	—	1	1	1	1	1	1	—	1	2
Período 3.º, Sífilis Hereditária y S. Nerviosa	Sin T.	—	—	2	3	1	2	2	—	—	4	2	—
	Con T.	5	2	2	4	6	7	2	1	3	5	9	6

Resumiendo el cuadro que precede, podemos anotar así :

TIPO DE SÍFILIS	REACCIÓN DE LOS AA.			REACCIÓN DE KAHN ST.		
	Neg.	Dud.	Posit.	Neg.	Dud.	Posit.
Chancro Sin Trat.	—	—	3	—	—	3
Chancro Con Trat.	7	1	3	6	—	5
Período 2.º Sin Trat.	—	—	6	—	—	6
Período 2.º Con Trat.	2	1	3	1	1	4
Período 3.º Sin Trat.	—	—	8	2	—	6
Período 3.º Con Trat.	5	2	19	2	1	23

Total de Casos :

No tratados :

Reacción de los AA : Negat. (O) ; Dudos. (O) ; Pos. 17
Reacción Kahn St. : Negat. (2) ; Dudos. (O) ; Pos. 15

Tratados :

Reacción de los AA : Negat. 14 ; Dudos. 4 ; Pos. 25
Reacción de Kahn St.: Negat. 9 ; Dudos. 2 ; Pos. 32

El número de reacciones efectuadas hasta la fecha, es todavia insignificante, para poder ofrecernos el verdadero valor de la misma, pero nos permite adelantar las siguientes conclusiones, que podrían con mejor y mas abundante control, ser corroboradas o bien corregidas :

1) En los casos en que existe certeza clínica de Sífilis, la reacción fué positiva en un 100%. Queremos aclarar aquí, que los casos de que disponemos, se tratan de enfermos que siguen su control, en un Centro de Venereo-Sifilis, al que concurren enviados por los distintos Servicios medicos y hospitalarios, generalmente ya con su diagnóstico serológico y clínico, para seguir tratamiento.

2) En los casos de Sifilis diagnosticadas, y que luego siguieron un tratamiento mas o menos regular, hemos obtenido una cifra de positividad que resulta mas baja en la reacción que venimos experimentando, que con la Reacción de Kahn Standard, lo que nos permite suponer que el tratamiento la negativiza con mas rapidez a la primera que a la segunda.

B) *Reacciones efectuadas en dadores de sangre*

El resultado obtenido sobre un total de 83 muestras es el siguinte :

N.º TOTAL DE REACCIONES	(++++)	(+++)	(++)	(+)	(±)	(---)
R. Kahn Standard	3,6%	4,8%	1,2%	7,2%	4,8%	78,3%
Reacción de los AA.	8,4%	—	1,2%	3,6%	9,6%	77,1%

N.º Total de R. de Kahn Standard Positivas : 16,2% ; Dudosas : 3,6%
N.º Total de R. de los AA. Positivas : 13,2% ; Dudosas : 8,4%

No pudiendo disponerse de sueros de personas clinicamente sanas, hemos dejado para otra oportunidad, el estudio de la especificidad con historias clínicas controladas, estudio este que nos obligamos a realizarlo en una próxima publicación.

No obstante, con el objeto de tener una idea al respecto, hemos usado los sueros de los dadores, que concurren al Banco Central de Sangre, y que en su

porcentaje arrojan un tanto porciento de personas enfermas, tanto por ciento que creemos es el que se encuentra mas cerca del verdadero índice serológico de nuestro pais, por cuanto, los que se detallan mas abajo, fueron realizados todos en centros hospitalarios, y casi todos ellos contando con Centros de Tratamiento de Venereo-Sifilis anexos :

Los diversos índices serologicos del pais son :

1) Tesis del Dr. Escobar (Hospital de Clinicas) 20,42%
2) Centro de Salud N.º 1 ..... 21,16%
3) Barrio Obrero 22-21,01%
4) Cruz Roja Paraguaya 29,96-13,38%
5) Instituto de Higiene 20,3-22,90%
6) Villarrica 19,33%
7) Concepción 26,76%
8) Encarnación 37,74%

Termino medio Serologico : 21% (4)

El porcentaje de reacciones de Kahn Standard positivas, obtenidas en los diversos Bancos de sangre en los años 1944-45-46 y 47 es el siguiente :

1) Instituto de Higiene (Banco Central)

(año 1944-45) ..... Posit. 8,3% ; dudos. 1%
(año 1945-46) ..... Posit. 25% ; dudos. 1,6%
2) Hospital de Clinicas ..... Posit. 13,4% ; dudos. 1,7%

Total : Positivas 18% ; dudosas 1,6%

Creemos pues, que tampoco, en este caso de los dadores, nuestra Reacción se aleja mucho en sus resultados de los de la Reacción de Kahn Standard.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS REACCIONES SEROLOGICAS EN PROCESOS FEBRILES

Estas reacciones se efectuaron, sobre diversos enfermos cuyo número total llega a 56. Los diagnosticos son de los mas variados : tifoidea, alastrin, sarampión, varicela, tétanos, neumonía, flemones, disentería bacilar, meningitis, difteria, T.B.C. ganglionar, y por ultimo antrax.

Resumimos a continuación los resultados :

N.º total de casos efectuados 56
Reacción de los AA. Positivas : 21,4% ; dudosas : 0%
Reacción de Kahn St. Positivas : 28,5% ; dudosas : 7,3%

Cualquiera que sea el índice serológico, que usemos como termino medio para nuestro pais : 21% (4), o 18% (Banco de sangre), las cifras encontradas en enfermos infecciosos febriles demuestran :

1) Que la Reacción de Kahn Standard ofrece mayor número de positivas, en enfermos infecciosos febriles, que la Reacción de los AA.

2) Que las reacciones positivas así observadas en la Kahn Standard, y negativas en la Reacción de los AA., eran solamente de una cruz, y en enfermos sin antecedentes Sifilíticos.

3) Que la Reacción de los AA. en toda la serie estudiada, solo dió una positiva falsa de una cruz.

Por lo tanto concluimos, que en lo que respecta a procesos infecciosos febriles, la Reacción de los AA. parece ser mas específica que la Reacción de Kahn Standard no dando sino escasas positivas falsas.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS 500 REACCIONES EFECTUADAS CON LAS DE KAHN STANDARD

Resumimos en el cuadro siguiente :

	R. Kahn St. (---)	R. Kahn St. (±)	R. Kahn St. (+)	R. Kahn St. (++)	R. Kahn St. (+++)	R. Kahn St. (++++)
R. de los AA. (---)	55,8%	3,2%	4,2%	0,6%	0,4%	---
R. de los AA. (±)	3,2%	0,2%	1,4%	0,2%	1%	---
R. de los AA. (+)	1,8%	0,4%	1,8%	1%	0,6%	---
R. de los AA. (++)	1,6%	---	1,6%	2%	2,8%	0,4%
R. de los AA. (+++)	0,2%	---	---	0,8%	1,6%	1,8%
R. de los AA. (++++)	0,6%	---	0,2%	1,8%	2,8%	6%

Comparativamente podemos anotar :

1) En el 67,4% coinciden ambas reacciones.

2) El 7,4% de las Reacciones de los AA. positivas, dieron negativas en la Reacción de Kahn Standard.

3) El 8,4% de las Reacciones de Kahn Standard, en cambio dieron negativas en la Reacción de los AA.

4) El 15% de las Reacciones, fueron mas fuertemente positivas, en la Reacción de los AA. que en la Reacción de Kahn Standard.

5) El 17,6% de las Reacciones de Kahn Standard, fueron mas fuertemente positivas que en la Reacción de los AA.

Estas cifras engloban, como se vió ya, los enfermos infecciosos, que en la Reacción de Kahn Standard, dan mas frecuentemente positivos que en la Reacción de los AA., y los casos de Sifilis a que ya hicimos referencia.

Como Resumen final del cuadro tenemos :

Negativas : 55,8%
Dudosas : Reac. de los AA. : 6% ; R. de Kahn St. : 3,8%
Positivas : Reac. de los AA. : 38,2% ; R. de Kahn St. : 40,4%

Quizás esta aparente mayor sensibilidad que demuestra el cuadro, a favor de la Reacción de Kahn Standard, sea debida a las falsas positivas de los en-

fermos infecciosos febriles, y al de los sifiliticos en tratamiento, según ya hemos visto.

Quedando por lo tanto, sujetos a las corroboraciones o enmiendas de un próximo trabajo, podemos finalizar con las siguientes conclusiones.

CONCLUSIONES

La Micro-reacción para la Sífilis de los AA., realizada con antígeno de Meinicke M.K.R.II, que se describe, tiene una sensibilidad y especificidad, que puede relacionarse con la Reacción de Kahn Standard como sigue :

a) Es mas específica que la Reacción de Kahn Standard en los procesos febriles.

b) Se negativa mas pronto que la R. de Kahn Standard, con el tratamiento antisifilítico.

c) Su sensibilidad para los casos no tratados de Sifilis, parece ser igual a la de la Reacción de Kahn Standard.

RESUMEN

Se describe una nueva tecnica de microrreacción para la Sifilis, usando el antígeno de Meinicke M.K.R.II, habiendose efectuado hasta ahora el estudio de la misma, sobre un numero de casos que no permiten expresar el verdadero valor de la Reacción por ser muy escaso todavía, pero que demuestra que la misma tiene una sensibilidad y especificidad, no muy alejadas de las que presenta la Reacción de Kahn Standard, siendo mas específica en los casos febriles, y negativizandose mas rapidamente con el tratamiento antiluético.

BIBLIOGRAFIA

1. Kolmer, J. A., 1945, *Diagnostico Clinico por los Analisis de Laboratorio*, Trad. mexicana, Ed. Interamericana S.A.

2. Kolmer, J. A. & Boerner, 1943, *Metodos de Laboratorio Clinico*. Trad. mexicana, Univ. Soc. Inc.

3. Navarro, M. A., 1944, *Metodos de Laboratorio para el Diagnostico de la Sifilis*, 208 pp., 48 figs., 3 láms. cols., Barcelona.

4. Masi, D. A., 1946, La lucha antivenérea en el Paraguay. *Rev. Med. Paraguay*, 3 (23) : 135-159.

5. Escobar, V., 1945, Indice de la infección sifilítica en el Paraguay determinado sobre un total de 28.000 sero-reacciones de Kahn. *Rev. Fac. Quim. Farm., Asunción*, 1 (1) : 57-68.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 87-92
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

DIPLÓPODOS NORDESTINOS. II. Família "Leptodesmidae" [1]

OTTO SCHUBART
Estação Experimental de Caça e Pesca, Pirassununga, S. Paulo

(Com 4 figuras no texto)

A primeira contribuição sôbre o material colecionado nos anos de 1934 até 1938 em vários Estados do Nordeste brasileiro, com preferência no Estado de Pernambuco, foi publicada em 1939 no *Zool. Anz.*, tratando da família *Strongylosomidae*. Por vários motivos ficou a continuação dêste trabalho paralisada. Incluo agora o resultado dos estudos de algum material gentilmente oferecido por outros colecionadores.

1. *Leptodesmus lartiguei* (Silvestri, 1897)

(Figs. 1-2)

1897 — *Cartharodesmus Lartiguei* Silvestri, *Ann. Soc. Ent. Belg.*, 41 : 358-359, figs. 45-48

1898 — *Leptodesmus (Leptodesmus) tuberculiporus* Attems, *Denk. Ak. Wien*, 67 : 384, pl. 6, fig. 124

1899 — *Leptodesmus L.* Attems, *Denk. Ak. Wien*, 68 : 427

1909 — *L. l.* Brölemann, *Cat. Fauna Brazil.*, 2 : 70

1909 — *L. t.* Brölemann, *Cat. Fauna Brazil.*, 2 : 73

1931 — *Pseudoleptodesmus (Pseudoleptodesmus) t.* Attems, *Zool.*, 30 (79) : 27, 31-32, fig. 46.

1938 — *Leptodesmus (Ps.) t.* Attems, *Tierreich*, 69 : 42, fig. 45

1946 — *L. t.* Schubart, *An. Acad. Brasil. Cienc.*, 18 : 191.

Descrita como representante do gênero *Cartharodesmus* caiu esta espécie logo no esquecimento. Já em 1899 relata Attems na sua monografia *lartiguei*, mencionando uma certa semelhança nos gonopódios com *L. nudipes*. Brölemann cita as duas espécies em questão. Mas

[1] Recebido para publicação a 14 de Outubro de 1947.

na elaboração dos *Leptodesmidae* no "Tierreich" não aparece mais *L. lartiguei*. Comparando descrição e figuras das mesmas só posso concluir pela sua plena identidade e coloco *Leptodesmus tuberculiporus* na sinonímia de *L. lartiguei*.

A última é descrita de Pernambuco sem indicações exatas, *L. tuberculiporus* da Bahia, mas com interrogação. Em 1931 dá ATTEMS, ainda, como localidade "Soledad" Brasil, localidade que não nos foi possivel identificar.

Encontramos agora nos Estados de Pernambuco e Paraíba material pertencendo seguramente à *L. lartiguei*, o que permitiu algumas adendas às descrições existentes.

O comprimento dos machos varia entre 42-60 mm. e talvez mais ainda, como provam pedaços de machos mortos com uma largura de 9,8 mm., enquanto que o macho de 60 mm. possue uma largura de 8,7 mm. As fêmeas variam entre 50-60 mm. Jovens com 19 segmentos apresentam entre 35-40 mm.

Côr marron preto, o labro e o gnatoquilário, como o lado ventral, marron. As antenas com o último artículo amarelado. Lado do *collum* e a parte posterior das carenas laterais com uma mancha larga, quase triangular, de um amarelo vivo, enxofre. Existem exemplares mais claros. Em álcool perde-se a coloração viva das manchas. Também o processo do segmento preanal amarelo.

Carenas pleurais com crista forte, rugosa e curva nos primeiros segmentos, atrás do segmento gonopodial substituida por mancha de alguns dentinhos escuros na parte anterior, enfraquecendo e desaparecendo finalmente no 15.º segmento.

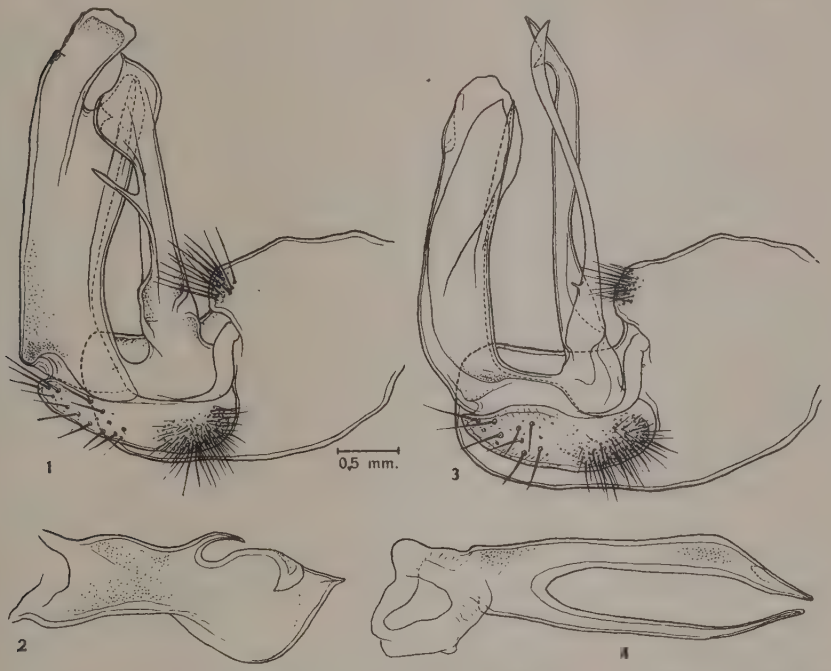
Esternitos do 4.º segmento com 1 par de processos coniformes, cobertos de algumas cerdas curtas. O 5.º com 1 par anterior de processos semelhantes, na base do par posterior de pernas com 2 fracas protuberâncias. O 6.º com 1 par de tufos de cerdas maiores e 1 par posterior de cerdas menores, porém, mais separados um do outro. Os 8.º e 9.º com 2 pares de protuberâncias cobertas de cerdas, nos segmentos seguintes vai enfraquecendo.

Pernas do macho com entumescência dorsal no prefêmur, bem desenvolvida nos 3.º — 20.º par, depois enfraquecendo. Lado interno da coxa e do prefêmur das pernas anteriores com bastante cerdas, que diminuem para trás e faltam nos últimos 10 pares. Tíbia e tarso, com exceção dos primeiros e últimos pares, com algumas cerdas articuladas.

Gonopódios: As pequenas diferenças nas figuras dadas por SILVESTRI e ATTEMS se explicam, em parte, pela posição dos órgãos em parte pela variação. A figura de SILVESTRI concorda melhor com a nossa. A separação do próprio solenomérito não é tão nítida, como salienta ATTEMS.

Carenas pleurais da fêmea semelhantes ao macho.

Esternitos da fêmea no 5.º e 6.º segmento com 2 pares de manchas cobertas de cerdas, sendo o par anterior colocado numa protuberância fraca. Os seguintes esternitos ainda com 2 pares de manchas, cobertas de algumas cer-



Leptodesmus lartiguei (Silvestri) — Fig. 1: Gonopódio direito de um exemplar de Recife, vista látero-interna; fig. 2: processo prefemural do gonopódio esquerdo, vista aboral. *Leptodesmus expansus* Brölemann — Fig. 3: Gonopódio direito do exemplar de Orocó, vista látero-interna; fig. 4: processo prefemural do gonopódio esquerdo, vista oral (Todas as figuras na mesma escala).

das, sendo o par posterior fraco. Ambas desaparecem sucessivamente para trás.

Pernas da fêmea mais estreitas, com menos cerdas e sem intumescência prefemoral.

Distribuição geográfica — Pernambuco: Recife, Várzea, na margem de um canavial (1 jovem) 4.I.35; Recife, bairro de Payssandú, num quintal (3 machos, 2 fêmeas) 26.VI.46, col. Maria Lucia Siqueira Netto; Jaboatão (1 macho) 15.X.35, col. Ergasto Cordero; Poção (Mun. Surubim) (1 fêmea) VIII.36 col. Antenor Leitão de Carvalho; Casinha (Mun. Surubim) (1 fêmea) VIII.36, col. A.L. de Carvalho. Paraíba: Campina Grande, no Cariri, perto de Pocinhos, sob pedras (1 macho, restos de 1 adulto, 2 jov. machos, 1 jov. fêmea) 26.XII.34; Bonito, perto de Campina Grande, numa capoeira (1 fêmea) 27.XII.34.

Por enquanto não se conhece a verdadeira área desta espécie, que talvez abrange uma zona grande do Nordeste.

2. *Leptodesmus expansus* Brölemann 1903

(Figs. 3-4)

Ann. Soc. Ent. France 71 : 672, figs. 23-24.

Macho, cerca de 50 mm. de comprimento, 9,5 mm. de largura.

Côr do macho provàvelmente marron, a carena lateral com uma mancha amarela.

Espécie muito semelhante ao *Leptodesmus lartiguei*.

Prozonitos com chagrin fino, longitudinal, metazonitos com retículo mais grosso. Dorso dos tergitos pouco curvado, com fraco sulco transversal ; as carenas laterais colocadas alto, horizontais, não muito largas. Seu ângulo anterior arredondado-retangular, ficando mais oblíqua na parte posterior do corpo. O ângulo posterior retangular arredondado, no 15.º segmento começa a salientar-se para trás em forma de um lobo triangular . Lado lateral pouco oblíquo. O rebordo nos segmentos sem poro liso, fino ; nos com poro mais acentuado, oval comprido. O poro abre-se lateralmente no segundo terço da bossa, se aproximando nos últimos segmentos à parte distal. A distribuição dos poros normal.

Carenas pleurais dos primeiros segmentos com crista curva, rugosa, em nosso exemplar pouco nítida como consequência da calcinação do exemplar. Uma entumescência clara se apresenta na parte anterior.

Esternitos do macho : O 4.º com 1 par de bossas baixas, cobertas de cerdas ; o 5.º com 1 par anterior de grandes bossas baixas, ovais, também cobertas de cerdas ; entre o par posterior de pernas com 1 par de tufos de cerdas aculeiformes. O 6.º com 2 pares de tufos de cerdas aculeiformes, sendo o par anterior maior e menos separado. O 8.º segmento ainda com 2 pares de bossas grandes, coniformes, cobertas de cerdas. Nos seguintes segmentos diminue o tamanho dos mesmos.

Pernas do macho : Sem palmilha tibial. Prefêmur com nítida intumescência dorsal nas pernas anteriores. O lado interno das pernas com cerdas fortes e curtas.

Gonopódios : Coxa larga, oval, a parte anterior se estreita de repente e salienta-se para a frente, protegendo a base do telopodito. Acima da base do corno coxal simples com um tufo de cerdas. Processo coxal ausente. Prefêmur oval, comprido, continuando na direção da coxa, relativamente com poucas cerdas na parte distal, interna. O fêmur dobra num ângulo de 90.º, se separando na parte basal, íntero-posterior, o solenomérito, ramo reto, estreito, ponteagudo, quase do comprimento do tíbiotarso. Êste se dilata numa fôlha oval, comprida. Na sua base interna tem origem uma fôlha pouco menor, lanceolada. O processo prefemoral é de forma singular, composto de dois braços estreitos e compridos, que se separam logo na base. O braço interno é levemente curvado e possue perto da base um processo dentiforme de tamanho reduzido e

termina numa parte lanceolada. O braço externo é mais grosso, sua parte distal se curva para a frente e bifurca em dois lobos estreitos, triangulares, de tamanho desigual.

Procedência — Orocó (Mun. Bôa Vista), Estado de Pernambuco. Sob pedras na caatinga (1 macho, já morto e calcinado pelo tempo e quebrado em pedaços) 7.XII.1937, col. o autor (Br. 1.031).

Comprovei a grande semelhança desta espécie com *L. lartiguei*, porém são bem distintas pelos gonopódios. Hesitei primeiro em coordenar meu exemplar macho com a descrição do *Leptodesmus expansus* Brölemann, 1903. Depois da descrição escreve este autor :

> "En l'absence de mâle pour nous fixer, nous aurions volontiers confondu cette forme avec *Catharodesmus Lartiguei* Silvestri, mais comme l'auteur ne parle pas de l'élargissement du corps dans les premiers segments (ses dessins n'en font ressortir aucun) et ne dit mot de l'impression transversale des metazonites et que d'ailleurs la diagnose du genre *Leiodesmus* (= *Catharodesmus*) porte explicitement : "somita tota laevia, sulco nullo", force nous est de créer un nom nouveau pour nous échantillons".

Apesar de BRÖLEMANN não conhecer o *Catharodesmus lartiguei*, percebeu a semelhança entre êsse e *L. expansus*, só conhecido em fêmeas. No meu macho, em aprêço, constatei também a grande semelhança na morfologia geral com *Leptodesmus lartiguei* e suponho que seja o macho desconhecido do *Leptodesmus expansus*. As ligeiras diferenças entre a minha e a descrição dada por BRÖLEMANN se explicam pelas diferenças sexuais e, em parte, pelo mau estado de conservação no qual foi encontrado o exemplar único.

3. *Sôbre os demais representantes do gênero Leptodesmus*

Em diversos lugares do Estado de Pernambuco, como em Recife, Salgadinho, Sanharó, Alagôa de Baixo, Águas Belas, Orocó, Belem e no sul do Estado de Ceará, Crato, encontramos exemplares jovens ou pedaços calcinados de adultos que não permitiam uma classificação, além da genérica, e mesmo esta com certa dúvida.

Alguns exemplares concordam evidentemente com as descrições de duas espécies menores (fêmea 34-37 mm.), das quais seu autor BRÖLEMANN já acentuou "dos très convexe". Trata se de :

Leptodesmus gibbula Brölemann, 1903, *Ann.Soc.Ent.France*, 71 : 659 figs. 7-9.

Leptodesmus simillimus Brölemann, 1903, *Ann.Soc.Ent.France,* 71 : 66! figs. 10-13.

Como a decisão baseada em fêmeas, em geral, não resolve definitivamente a situação, desisto de uma classificação, já de antemão, duvidosa e insatisfatória.

4. *Cearodesmus sp.*

Em Campina Grande, Estado de Paraiba, e em Salgadinho, Mun. Bom Jardim, no Estado de Pernambuco, encontramos, na caatinga, entre pedras e sob fôlhas sêcas — 29-IX.36 e 1.X.36 — restos de um *Leptodesmidae* que com grande probabilidade deve pertencer ao gênero *Cearodesmus,* descrito em 1945 dos arredores de Fortaleza, Estado de Ceará. A posição específica sòmente os machos podem esclarecer.

SUMMARY

Leptodesmus tuberculatus Attems, 1898 is considered synonym of *Leptodesmus lartiguei* (Silvestri, 1897). A short redescription based on specimens of the litoral region of Pernambuco is given. The unknown male of *Leptodesmus expansus* Brölemann, 1903 is described, based on a dead and just decomposed especimen found in the "caatinga" near Orocó, Pernambuco. Short notes on other doubtful species of *Leptodesmus* and *Cearodesmus* are added.

BIBLIOGRAFIA

Attems, C., 1938, Polydesmoidea II in *Das Tierreich,* 68.

Brölemann, H. W., 1903, Myriapodes recueillis par M. E. Gounelle au Brésil. *Ann. Soc. Ent. France,* 71 : 649-694, 36 figs., pls. 6-7.

Schubart, O., 1939, Die Myriapoden des Staates Pernambuco. I. Die Familie *Strongylosomidae. Zool. Anz.,* 128 : 77-84, 3 figs.

Schubart, O., 1946, Contribuição ao conhecimento do gênero *Leptodesmus. An. Acad. Brasil. Cienc.,* 18 : 165-202, pls. 1-3.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 93-111
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

INTRODUCTION À L'ÉTUDE DES MYIASES [1]

E. SÉGUY
Muséum d'Histoire Naturelle, Paris, France

Le mot "myiase" sert à désigner l'ensemble des phénomènes produits dans l'organisme d'un animal par l'action d'une larve de Diptère. Les larves des Diptères peuvent être ectoparasites ou endoparasites. Les ectoparasites provoquent les myiases cutanées, les endoparasites déterminent des myiases cavitaires ou intestinales.

On ne connaît qu'un exemple de myiase provoquée par un imago du groupe des Pupipares : c'est à la famille des Streblides qu'appartiennent les *Ascodipteron* spéciaux à l'Inde qui provoquent sur les chauves-souris une myiase cuticole d'une nature particulière. Ces *Ascodipteron* présentent le plus haut degré de spécialisation parasitaire observé chez les Diptères. La femelle, après avoir perdu ses pattes et ses ailes, subit une métamorphose régressive et se transforme en une sorte d'utricule que s'enkyste dans la peau de l'hôte.

MYIASES CUTANÉES

Les myiases cutanées sont des affections provoquées par le développement dans la peau ou dans les tissus conjonctifs sous-cutanés, de larves de mouches parasites. On distingue plusieurs sortes de myiases cutanées : la myiase rampante, la myiase à tumeurs ambulatoires, la myiase furonculeuse. Seule la myiase rampante peut avoir pour cause une jeune larve de Gastérophile. Les autres sont produites par des larves d'Hypodermes.

La MYIASE RAMPANTE débute par un point douloureux sous-cutané au niveau duquel se trouve une très jeune larve. Ce point se déplace d'une façon continue et le trajet forme une ligne ecchimotique rouge, qui peut atteindre une certaine longueur. Cette myiase est généralement due à une larve de Gastérophile. On a observé les oeufs de cette mouche attachés sur les poils de la face des malades.

[1] Reçu le 5 Novembre 1947.

La MYIASE À TUMEURS AMBULATOIRES est commune en Norvège et dans les régions septentrionales de la Russie. Plusieurs cas ont été signalés en France, en Normandie et en Bretagne. Cette affection a pour cause la larve de l'Hypoderme du boeuf. Celle-ci peut cheminer sous la peau pendant plusieurs mois et forme, de bas en haut, des sillons plus ou moins longs ; des tumeurs marquent les points où la larve séjourne et la dernière, qui permet l'évasion du parasite, est plus volumineuse. Les larves sont observées sur des personnes, souvent sur des enfants, employés à garder le bétail. C'est probablement l'odeur de bouverie qui attire les mouches pondeuses. En Norvège cette affection, qui s'observe principalement dans les districts côtiers, est bien connue des habitants. On aurait coutume, pour empêcher les larves d'errer sous la peau, d'attacher une bague ou un anneau sur la tumeur provoquée par le parasite, dans le cas où cette bague peut être serrée contre un os. L'expulsion prématurée du parasite et les trajets sous-cutanés effectués par la larve montrent que l'homme est un hôte accidentel.

La MYIASE FURONCULEUSE est une tumeur cutanée produite par le Ver du Cayor, par la larve de la Dermatobie ou d'un Hypoderme. En Europe elle est généralement provoquée par l'Hypoderme de Diane, rarement par l'Hypoderme du boeuf.

Le Ver du Cayor — En 1861, deux chirurgiens de la marine, Coquerel et Mondière, observèrent au Sénégal plusieurs soldats européens portant sur les bras et les jambes des tumeurs furonculeuses. Ces tumeurs, de la grosseur d'un oeuf de pigeon, étaient percées d'un orifice, au centre duquel on pouvait voir un bourbillon blanchâtre formé par l'extrémité d'une larve de Diptère. Une chienne épagneule qui vivait avec ces soldats portait également, sur tout le corps, mais surtout dans le pavillon des oreilles et entre les orteils, une centaine de tumeurs semblables. Cette chienne mourut au bout de quelques jours.

En 1872, un autre médecin de la Marine, Bérenger-Féraud, signale l'existence au Sénégal de larves de Diptères qu'il désigne sous le nom de "Ver du Cayor". Ces larves s'introduisent sous la peau de l'homme et des animaux qui dorment étendus sur le sol, et déterminent une affection ayant l'aspect d'une éruption de furoncles, chaque furoncle contient une larve. Ces larves mises en observation ont donné un Calliphoride, le *Cordylobia anthropophaga*.

Le Ver du Cayor *(Cordylobia anthropophaga)* est la larve d'une grosse mouche à corps épais, d'un gris jaune, les ailes sont légèrement jaunies. Elle est répandue dans toute l'Afrique tropicale. On la trouve sur les substances en décomposition, parfois dans les cases des indigènes. La mouche pond sur le sol. Les jeunes larves rampent sur la terre et lorsqu'elles atteignent un hôte convenable, elles s'enfoncent dans sa peau en soulevant l'épiderme. Elles évoluent sur place sans effectuer de migrations, et provoquent par réaction des tissus une véritable galle animale qui assure le développement du parasite. L'orifice demeure béant et permet la respiration de la larve. Le Ver du Cayor

a été trouvé sur les rongeurs, les chiens, les chats, les chèvres, les singes et l'homme, logé en divers points du corps, dans des tumeurs furonculiformes, particulièrement sur les membres inférieurs.

M. Roubaud a observé des faits d'immunité à l'égard du parasitisme cordylobien. Le rat et le chien sont des hôtes d'élection recherchés par le parasite, mais le porc et la poule sont délaissés. Chez l'homme le développement du Ver du Cayor est inconstant. Les conditions physiologiques, particulièrement la température du corps des hôtes ou un processus acquis d'immunité cutanée, sont parmi les réactions protectrices contre les attaques de la mouche.

La Dermatobie malfaisante — Cette mouche appartient à la famille des Cutérébrides. Cette famille, surtout connue par les représentants du genre *Cuterebra*, renferme environ soixante espèces exclusivement américaines. Ce sont des mouches épaisses, longues de 12-15 millimètres, de couleur terne, à ailes brunes, qui se distinguent par les yeux écartés, par les antennes placées dans une fossette, par la trompe très courte. Les larves sont des parasites obligatoires des animaux sauvages, occasionnellement des animaux domestiques et de l'homme. Ces parasites se répartissent dans les genres *Rogenhofera*, *Bogeria*, *Pseudogametes*, *Cuterebra*, *Dermatobia*. Les larves des *Cuterebra* parasitent des marsupiaux, des rongeurs, occasionnellement des carnivores. Celles du *Cuterebra emasculator* se développent dans le scrotum des écureuils américains et provoquent la destruction des testicules, soit directement, soit par suite des lésions de grattage ou des morsures que se font les hôtes qui réagissent contre l'irritation produite par le parasite.

La Dermatobie malfaisante *(Dermatobia cyaniventris)* est une mouche grise à tête d'un jaune orange, les ailes brunes sont conformées comme celles de certains Calliphorides, l'abdomen est bleu avec la base blanchâtre. Ce Diptère se rencontre assez communément dans certaines régions de l'Amérique méridionale, près des bois et des forêts. Le bœuf, le chien, le couguar, l'once, l'agouti et l'homme peuvent autoriser le développement des larves ; le bœuf est l'hôte préféré, il porte parfois plusieurs centaines de larves. Au moment de la ponte, la Dermatobie ne recherche par particulièrement l'hôte qui assurera le développement des larves. Elle capture un arthropode zoophile quelconque, mouche, moustique, taon, stomoxe, ou un ixode. Elle colle un paquet d'œufs sur un endroit quelconque du corps de l'insecte, puis elle relâche celui-ci. La femelle ne fixe que dix ou vingt œufs sur l'insecte porteur. Elle doit en capturer un assez grand nombre pour se libérer des trois ou quatre cents œufs qui forment la totalité de la ponte. En quelques jours les larves provoquent l'éclosion des œufs dont les coquilles s'ouvrent . Lorsque l'insecte porteur, lécheur de sueur ou suceur de sang, se pose sur un hôte convenable, les jeunes larves se laissent tomber et s'enfoncent dans la peau. Les larves, blanchâtres, peuvent atteindre 25 millimètres de long. Le corps est piriforme, la partie postérieure est rétrécie et forme une espèce de queue segmentée, le corps porte six ceintures d'épines robustes. Ce sont les "bernes", "vers macaques" ou "vers de moustiques". Ils

provoquent sur place la formation de tumeurs de plus en plus volumineuses d'où s'écoulent des matières purulentes. Cette affection est grave chez le chien ; sous l'influence de la chaleur, des grattages ou des morsures, les tumeurs s'ulcèrent et peuvent amener la mort. Chez le boeuf ces tumeurs peuvent attirer d'autres Diptères qui déposent sur les ouvertures leurs oeufs ou leurs larves, ce qui aggrave la nature des plaies ; la peau, percée de nombreux trous, est inutilisable. L'évolution du ver macaque demande environ cinquante jours chez le chien, cent jours ou plus chez l'homme. Lorsqu'elle est terminée, les larves tombent sur le sol où elles se transforment. Le traitement consiste à extirper les larves par incision et pression et à désinfecter les plaies.

Les Hypodermes — Ce sont des Diptères qui, à leur dernier stade larvaire, parasitent la peau des Mammifères ongulés et y produisent des tumeurs furonculeuses dans lesquelles les larves poursuivent leur évolution. On les a observées surtout chez les Bovidés et les Cervidés.

La connaissance du développement de ces Diptères est un fait d'acquisition relativement récente. Les Hypodermes ressemblent à des bourdons. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce que les anciens aient confondu deux insectes d'ordre différent et leur aient attribué une origine extraordinaire ; ils croyaient que les animaux pourris donnaient naissance à des abeilles, fait accepté depuis la plus haute antiquité et qui s'est maintenu jusqu'au milieu du XVIIIe siècle.

Thomas Moufet répète ce qu'il a lu dans les ouvrages des vieux naturalistes :

> "la chair la plus dure des chevaux produit des frelons, la plus tendre des guêpes. Mais les commentateurs grecs de Nicander attribuent cette faculté à la peau, non à la chair ; cependant il faut que le cheval ait été mordu par un loup".

Georgius Pachymeres affirme que les guêpes ne proviennent ni de la chair, ni de la peau, mais du cerveau. Lando dit que les frelons naissent du cerveau des ânes. Mais Servius Grammaticus mélange tout et dit que les bourdons proviennent des chevaux, les frelons des mulets et les guêpes des ânes. Olympiodore, Pline, Cardanus, Porta affirment que l'âne produit des bourdons et des coléoptères, mais non des guêpes, et Horus dans son livre des Hiéroglyphes (II, ch. 23) parle de guêpes sorties de la chair des crocodiles...

Dans toutes ces légendes il y a une partie de vérité et une observation superficielle à des conséquences inattendues. L'assertion des commentateurs de Nicander sur les abeilles ou les guêpes produites par la peau des animaux se rapporte vraisemblablement aux Oestrides cuticoles du genre *Hypoderma*, dont les larves se trouvent dans la peau des boeufs, des chevaux et des ânes vivants. Les mouches de ce genre ressemblent à des bourdons beaucoup plus qu'à des abeilles mellifères.

Deux espèces sont parasites du boeuf : *Hypoderma lineatum* et *H. bovis* ; la première espèce est bien connue des éleveurs nord-américains, la seconde est

à peu près cosmopolite. *L'Hypoderma Diana* est répandu dans toute l'Europe, ses larves forment des tumeurs sous la peau des cerfs et des chevreuils. D'après Réaumur (Mém., IV, p. 527)

> "les chasseurs savent non seulement que les cerfs sont très sujets à avoir de ces tumeurs et que l'intérieur de chacun est occupé par un ver, auquel ils donnent le nom de taon ; ils ont de plus fais un système physique sur l'usage dont ces vers vont aux cerfs. Ils ont imaginé qu'ils servent à faire tomber son bois ; qu'il vient un temps où les vers s'acheminent sous la peau, pour se rendre à la racine du bois ; que tous la rongent de concert ; et que le bois dont l'appui a été coupé est obligé de tomber".

Les Hypodermes ont un front large et aplani ; les palpes sont toujours présents, mais la trompe est très réduite. Les antennes portent un chète nu. Les Hypodermes fréquentent les bois et les pâturages où se trouvent des bestiaux. On les rencontre dans toute la région holarctique. La femelle porte un oviscapte allongé et donne des oeufs de près de 2 millimètres de long. Ces oeufs, fixés sur le pelage des mammifères, surtout des Bovidés, occasionnellement des chevaux, des chèvres et des moutons, éclosent dès que l'animal se lèche. La jeune larve est couverte de petites épines et possède une armature buccale caduque. Dès l'éclosion elle s'accroche à la langue de son hôte. Elle émigre ensuite dans le tube digestif, pénètre le médiastin, le diaphragme et le creux du rein. Elle entre ensuite dans le canal vertébral où elle séjourne plus ou moins longtemps. Puis elle pénètre dans les muscles dorsaux pour atteindre le tissu souscutané où elle provoque la formation d'une tumeur furonculeuse. L'orifice de cette tumeur résulte de l'action de la larve contre la peau ; il ne correspond pas à l'orifice d'entrée.

En résumé, les Hypodermes subissent quatre stades larvaires. Le premier après l'éclosion de l'oeuf donne une larve pénétrante qui traverse la muqueuse du tube digestif et vient se loger dans le tissu sous-muqueux. Le deuxième âge (migrateur) s'effectue en grande partie dans le tissu oesophagien ; la larve passe ensuite dans le tissu conjonctif lâche, puis dans le tissu sous-cutané. Les deux derniers âges sont sédentaires dans la peau de l'hôte. Arrivée à son développement complet, la larve tombe sur le sol. La métamorphose a lieu dans la terre, à peu de profondeur.

La présence de larves d'Hypodermes se décèle facilement sur les Bovidés par les trous plus ou moins nombreux qui font perdre à la peau une grande partie de sa valeur. Les dégâts sont parfois très élevés, en France et en Afrique du nord ils dépassaient, en 1935, plus de vingt-cinq millions de francs.

Outre la dépréciation dans la valeur du cuir produite par les parasites, la présence de ceux-ci n'est pas sans nuire au bon état de l'hôte. Il y a donc intérêt à rechercher ces parasites et à les extraire en prenant soin de ne pas les écraser. Leur écrasement dans la plaie peut amener chez l'hôte des accidents anaphylactiques. L'existence de ces larves, surtout chez les animaux jeunes,

serait dûe à ce que les adultes possèdent probablement une immunité active (Roubaud et Pérard).

Plusieurs autres espèces de mouches peuvent provoquer des myiases cutanées chez les animaux. Les Muscides du genre *Philornis* habitent l'Amérique centrale et l'Argentine. Leurs larves sont des parasites sous-cutanés qui forment des tumeurs sur les jeunes oiseaux. Le Muscide *Ruttenia loxodontis,* type de la sous-famille des Rutténiines, provient d'une larve qui se développe sous la peau de l'Eléphant d'Afrique. Le *Neocuterebra squamosa* est un Oestride cuticole dont la position systématique est douteuse ; sa larve, également parasite de l'Eléphant d'Afrique, se développe dans le tissu adipeux et la sole pédieuse. A Burma et aux Philippines, les Calliphorides du genre *Boononus* produisent également des myiases cuticoles et de la sole pédieuse chez le Buffle d'eau et les Eléphants domestiques.

MYIASES CAVITAIRES

Cette affection est produite par le développement dans les cavités naturelles ou dans les plaies des animaux de larves à parasitisme obligatoire ou facultatif. Chez les animaux les myiases cavitaires sont dues à des parasites obligatoires qui appartiennent à la famille des Calliphorides et à la famille des Oestrides. Chez l'homme ces myiases sont provoquées par des parasites facultatifs qui peuvent affecter les fosses nasales (rhinomyiases), le conduit auditif (otomyiases), les yeux (myiases oculaires ou ophthalmomyiases), les voies urinaires (cystomyiases). Les myiases des plaies et les myiases généralisées sont considérées comme des myiases cavitaires.

Myiases cavitaires animales — Ces myiases sont provoquées par des larves de Calliphorides de la sous-famille des Céphénomyiines et par les larves des Oestrides.

Les Céphénomyiines sont communs en Europe septentrionale, orientale et centrale. Les larves, parasites des Cervidés, produisent des myiases dans les cavités nasales, sur le palais et la trompe d'Eustache. On les trouve aussi, mais plus rarement, dans le pharynx.

La larve du *Pharyngomyia picta* se développe dans le pharynx du Cerf. Le *Pharyngobolus africanus* évolue dans le pharynx de l'Eléphant d'Afrique. La larve, à corps plan sur la face sternale, est armée d'épines et de plages mucronées disposées en ceintures.

Aristote et Pline désignent sous le nom de *scolex* et de *vermiculus* les parasites du pharynx du Cerf. Ce sont les larves du *Pharyngomyia picta* qui se développent respectivement dans la cavité pharyngo-nasale et dans le pharynx du *Cervus elaphus.*

> "Tous les Cerfs ont dans la tête des vers vivants. Ces vers se produisent dans la cavité qui est au-dessous et en bas de la langue, et encore près de la vertèbre, où s'attache la tête. Leur grosseur est

> celle des plus forts asticots ; ils sont pressés les uns contre les autres et se tiennent entre eux, au nombre d'une vingtaine". (ARISTOTE, H. A., liv. 2, ch. II, 8).

PLINE (liv. II, ch. 49, 2) reproduit ce que dit ARISTOTE.

JEAN RUELLI (Vet. Med., 1537) confond les teignes parasites des chevaux (Gastérophiles) et celles qui infestent les Cervidés :

> "certains vers *(Scolekepes)* s'engendrent au ventre du Cerf, lesquels montent à mont, quand il remache et rumine, et se tiennent assez serrez au gosier, à cause de quoy le Cerf n'a point d'arrest et court et racourt maintenant deçà maintenant delà : mais il a une astuce contre ce mal, car il dévore Serpents et autres Reptiles, qui l'expédient et font mourir ces vers".

Les Oestrides sont des mouches robustes dont l'appareil buccal est réduit ou atrophié. Les antennes sont insérées dans des fossettes contigües. Les cuillerons sont élargis. Les ailes, à membrane épaissie, portent des nervures serrées le long de la marge costale, permettent un vol très rapide. Les Oestrides ne prennent pas de nourriture à l'état d'imago et ne vivent pas longtemps sous cet état. Au moment de l'accouplement, ils se rassemblent au sommet des lieux élevés. Les femelles, ovipares ou ovovivipares, pondent près des orifices du nez ou dans les yeux des mammifères. Les larves cheminent dans les fosses nasales et pénètrent parfois dans les sinus frontaux où leur évolution se poursuit. La métamorphose a lieu dans le sol. Les mouches parasitent les moutons, les chevaux, l'hippopotame, les Camélidés et les kangourous. Cent cinquante espèces connues habitent surtout les régions chaudes.

L'*Oestrus ovis,* type de la famille, est un parasite normal du mouton, des chèvres et des antilopes. Il est répandu dans le monde entier et il est plus commun dans les régions d'élevage du mouton. La femelle dépose très rapidement au vol, dans les narines de l'hôte, des larves au premier âge, qui cheminent vers les cavités nasales et gagnent les orifices de l'ethmoïde, puis les sinus frontaux et leurs dépendances. Au troisième âge, les larves, d'un blanc d'ivoire, sont rassemblées dans les cavités osseuses de la base du crâne et des cornes. Leur action exagère la secrétion des mucosités dont elles se nourrissent et provoque le "vertige d'oestre" ou "faux tournis". Cette affection occasionne des pertes considérables dans les troupeaux. La larve adulte est expulsée par ébrouement ou éternuement. La nymphose est de plus ou moins longue durée suivant la saison.

La larve du *Cephalopina titillator* provoque une myiase cavitaire chez le buffle et le dromadaire. Elle s'introduit dans les cavités nasales, les sinus frontaux et le pharynx. Adulte, cette larve peut mesurer jusqu'à 35 millimètres de longueur et 8-9 dans la plus grande largeur. Les segments sont armés de larges épines triangulaires. La nymphe ressemble à celle de l'Hypoderme du boeuf. La mouche est couverte d'une pruinosité grise ou cendrée ; le thorax

est brun ou roux ; elle vit dans toutes les régions d'élevage du chameau, de la Mauritanie au Tchad.

Le *Rhinoestrus purpureus* est un Diptère presque glabre, long de 8 à 11 millimètres ; le corps, d'un brun rougeâtre foncé, est parsemé de tubercules, la face dorsale du thorax est marquée de bandes noires luisantes et épilées. L'abdomen est d'un pourpre argenté ou versicolore et grisâtre, l'extrémité, plus ou moins tuberculeuse, présente quelques soies dressées. Le Rhinoestre se rencontre en été dans presque toute l'Europe, l'Asie centrale et antérieure, le nord de l'Afrique. La femelle est vivipare ; elle dépose rapidement en une seule fois huit à quarante petites larves dans les yeux ou le nez des animaux. La larve se développe dans les sinus frontaux, le pharynx et le larynx du cheval et du mulet. Elle y provoque une myiase cavitaire, compliquée de dyspnée, de cornage et de toux. Dans les cas graves la mort peut survenir par asphyxie.

Myiases des plaies — Chez les animaux les myiases des plaies sont communes. Elles sont ordinairement provoquées par des Muscides ou des Calliphorides. Chez les Muscides les genres *Musca, Muscina, Synthesiomyia* et *Fannia* peuvent être accusés ; chez les Calliphorides, les diverses mouches bleues et vertes et les Sarcophagines (mouches à damiers) sont responsables de myiases animales graves.

Les Lucilies ou "mouches vertes" portent un tégument assez mince coloré en vert brillant, à reflets pourpres, bleus ou cuivrés. Ce sont des insectes hygrophiles, lucicoles et floricoles, saprophages, occasionnellement coprophages. Au soleil, leur vol rapide s'accompagne d'un bourdonnement caractéristique. Les larves sont des asticots robustes, à croissance rapide. On peut les rencontrer dans toutes les matières organiques en décomposition.

Une espèce, le *Lucilia bufonivora,* est normalement parasite des batraciens ; la larve produit une myiase grave, très souvent mortelle chez les *Rana, Bufo, Alytes, Bombinator* et *Pelobates.* Aussitôt après l'éclosion, les jeunes larves de la Lucilie courent sur la peau du crapaud et s'enfoncent dans les fosses nasales où elles se maintiennent un certain temps avant de faire succomber leur hôte qu'elles dévorent par la suite. Ces larves ont une propriété particulière qui les empêche d'être dégluties et digérées par le crapaud.

D'autres espèces de Lucilies peuvent devenir parasites si les circonstances sont favorables ; les femelles déposent leurs oeufs de préférence sur les hôtes malades ou blessés, sur le hérisson, sur les oiseaux déjà affaiblis par les attaques des *Protocalliphora* ou des *Passeromyia,* sur les animaux domestiques ou sur les hommes blessés. Les myiases provoquées par les larves de ces mouches peuvent amener la mort de l'hôte. Celles de la Lucilie soyeuse *(L. sericata)* causent une myiase cutanée sur les moutons ; la femelle dépose ses oeufs sur les régions couvertes d'une peau fine, surtout près de l'anus ; les jeunes larves percent la peau et cheminent jusqu'à la croupe. En Australie cette mouche a provoqué la perte de plusieurs millions de moutons par an. Dans la même région le *Chrysomyia rufifacies* se comporte de la même façon et produit les mêmes dégâts.

Les Sarcophagines ont également la tendance de déposer leurs larves sur des plaies préexistantes. Les conséquences sont toujours sérieuses. En Afrique septentrionale, les dromadaires, les chevaux et les bêtes à cornes sont souvent attaqués par une mouche voisine de la Sarcophage magnifique. Aux Indes on a signalé une myiase cutanée grave dûe aux larves du *Sarcophaga ruficornis.*

Selon PORTCHINSKY, le *Wohlfahrtia magnifica* est une mouche rurale que l'on ne trouve jamais dans les maisons. Elle attaque l'homme et les animaux, surtout les bêtes à cornes, les chevaux, les porcs, les moutons, les chiens et les oiseaux domestiques, particulièrement les oies. Une plaie insignifiante, soudainement envahie par les larves de cette mouche, qui rongent les tissus, revient rapidement inguérissable. Ce Sarcophagide recherche particulièrement les cavités du corps des animaux, de préférence la région inguinale des vaches, où ses larves engendrent des plaies extrêmement graves. Chez les chiens les mêmes larves se trouvent dans les oreilles, et il est fréquent de les voir en même temps piqués par des légions de Stomoxes. FORGEOT a signalé une tumeur parasitaire de l'auge chez le cheval qui renfermait douze de ces larves. D'après M. le Dr. DELANOË, le *Wohlfahrtia magnifica* est au Maroc la "mouche des plaies", et il la considère comme un dangereux ennemi du bétail. Les larves de cette espèce ont été rencontrées chez les Equidés, les Bovidés, les Camélidés : ces derniers semblent de beaucoup les plus fréquemment atteints, même par infestation spontanée, sans avoir été blessés auparavant, ou même à la suite des piqûres de Tiques. Les boeufs et les chevaux présentent souvent une blessure profonde, produite par un coup de corne, qui c'est infectée secondairement, les larves des Wohlfahrties grouillent parfois dans ces plaies en quantités invraisemblables et, sans un traitement rapide, la guérison est impossible.

MYIASES CAVITAIRES HUMAINES — *Otomyiases* : La Sarcophage magnifique *(Wohlfahrtia magnifica)* est une mouche de la grandeur de notre mouche à damiers. De couleur gris cendré, elle présente trois taches noires sur chaque anneau de l'abdomen, la face et les côtés de la tête sont blancs, les antennes et les pattes noires. La femelle dépose ses larves dans les plaies des animaux, sur les parties du corps couvertes d'une peau mince, ou dans les cavités naturelles. Dans les campagnes la mouche attaque l'homme occasionnellement et recherche particulièrement les enfants. Les larves se trouvent dans les oreilles, le nez et la voûte palatine. De fortes hémorrhagies nasales ou auriculaires surviennent, affaiblissant considérablement les malades. Les désordres causés par ces larves sont quelquefois considérables et produisent des douleurs si intenses que les patients peuvent perdre la raison. Les asticots logés dans l'oreille dévorent les parties molles du conduit auriculaire et peuvent traverser le tympan ; il en résulte une surdité passagère ou durable. Si les larves atteignent les yeux, elles peuvent amener la perte totale de la vue.

La Chrysomyie bouchère *(Cochliomyia macellaria)* est colorée en bleu ou en vert avec des reflets métalliques cuivrés ou pourprés ; la face dorsale du thorax présente trois bandes noirâtres et l'abdomen deux ou trois bandes trans-

versales noires. Cette mouche habite une grande partie du continent américain, depuis le nord des Etats-Unis jusqu'à la Républiquc Argentine. On l'observe dans les villes comme à la campagne. C'est un Diptère redoutable qui se conduit comme la Sarcophage magnifique. Il pond dans les oreilles, dans les cavités nasales, dans les plaies de l'homme et des animaux domestiques. Le pronostic est toujours grave.

Ophthalmomyiases : Les cas de myiase oculaire spontanée paraissent assez rares, mais beaucoup d'exemples échappent aux observations médicales, soit par négligence, soit que le malade guérisse spontanément. Les parasites bénins comme la larve de l'Oestre du mouton disparaissent à la suite d'un traumatisme ou d'une cause étrangère quelconque. Seules les larves de Calliphorides ou de Rhinoestres produisent des dégâts plus graves. Dans ce cas l'ophthalmomyiase est une affection rarement isolée : c'est une complication de la myiase nasale, les larves passent par les fentes sphénoidales dans l'orbite et peuvent dévorer l'oeil.

La myiase oculaire peut être provoquée chez les trachômateux par le développement de jeunes larves de la mouche domestique, peut-être par des larves de Nématocères ou de Calliphorides. Les insectes qui occasionnent spontanément des myiases sont presque toujours des Sarcophages ou des parasites zoophiles.

L'*Oestrus ovis* peut provoquer des myiases oculaires chez l'homme surtout chez les personnes qui, par leurs occupations, se trouvent près des animaux porteurs de parasites. L'homme est attaqué par la mouche lorsque l'animal fait défaut, ou lorsque la population humaine est plus dense que la population animale. Les larves sont déposées sur les yeux, les lèvres ou les muqueuses. Elles peuvent tomber dans la cavité conjonctivale. La larve de l'Oestre ne se nourrit pas de sang et ne semble pas pouvoir attaquer les tissus : elle n'évolue pas dans les cavités où elle a été placée. Aussitôt après la ponte elle demeure immobile, reste adhérente à la muqueusc et provoque une inflammation particulière. Le traitement consiste à extraire les larves après insensibilisation au moyen d'un collyre à la cocaïne. La myiase oculaire est commune en Europe, en Russie et en Algérie, elle a été signalée aux Iles du Cap Vert. Elle est observée depuis longtemps dans les possessions portugaises, et les Chinois connaissent les ophthalmomyiases depuis la plus haute antiquité.

Le *Rhinoestrus purpureus* attaque les personnes qui vivent en contact permanent avec les chevaux. La femelle peut déposer ses larves dans les yeux, où elles provoquent des douleurs lancinantes qui empêchent d'ouvrir les paupières. La conjonctive s'ulcère et la fonte de l'oeil peut survenir. L'affection peut s'observer en Europe centrale ; elle était commune en Sibérie.

Dans les abattoirs, surtout provinciaux, il faudra veiller à ce que les larves d'Oestres provenant des moutons soient immédiatement détruites. L'apparente immobilité des larves ne doit pas faire croire à leur inocuité, encore moins à

leur mort. Ces larves jetées à la poubelle ou sur le fumier peuvent se nymphoser et donner des mouches pondeuses. Ces mouches peuvent provoquer l'opthalmomyiase ou se répandre dans les campagnes et attaquer des animaux indemnes. On sait que les Oestrides ne se nourrissent pas à l'état d'imago et ne butinent pas les fleurs. Leur première fonction, dès l'éclosion, est la recherche d'un lieu de ponte.

Les raisons de désinfection qui sont valables pour les Oestres doivent s'appliquer aux mouches vraies. Il faut lutter partout contre l'envahissement de ces insectes. Si ceux-ci ne provoquent pas fatalement l'ophthalmomyiase par leurs larves, ils peuvent être vecteurs du trachôme et de nombreux organismes pathogènes.

Cystomyiases : Les myiases des voies urinaires ont souvent pour cause les larves des Fannies. Les jeunes larves écloses d'oeufs déposés au niveau du méat urinaire remontent dans la vessie, où elles peuvent provoquer des désordres plus ou moins graves. Occasionellement les larves de la mouche domestique peuvent se comporter de la même manière. Les lavages vésicaux permettent de les expulser.

Myiases des plaies : Les myiases des plaies sont les plus communes. Généralement des mouches variées viennent déposer leurs oeufs ou leurs larves directement dans les blessures, les plaies purulentes ou syphilitiques, dans les ulcères dont l'odeur les attire. Les larves néonates attaquent les tissus sous-jacents et y provoquent des dégâts plus ou moins graves. Ces myiases s'observent chez les Vertébrés et les Invertébrés terrestres et amphibies. Les animaux aquatiques sont protégés par le milieu contre les attaques des mouches aériennes; seules certaines larves aquatiques peuvent vivre à leurs dépens.

L'action des larves sur le corps de l'homme est connue depuis la plus haute antiquité. On en trouve des traces dans la Bible :

> "Satan frappa Job d'une effroyable plaie depuis la plante des pieds jusqu'au sommet de la tête" (Job, I, 2, 8). Assis sur la cendre, il ôte avec un morceau de pot de terre la pourriture qui sort de ses ulcères : "ma chair se couvre de vers et d'une croûte terreuse, ma peau se gerce et coule" (id., VII, 7, 5).

Les Grecs, et parmi eux Homère, avaient constaté que les vers pouvaient envahir les plaies. Dans l'Iliade (I, XIX, 25), Achille craint que des vers ne soient engendrés par des mouches à l'intérieur des plaies de son ami Patrocle. Mais la déesse Thétis le rassure en lui disant qu'elle écartera "les essaims impurs des mouches qui mangent les guerriers tués dans le combat" (II., XIX, 25). Les vers des plaies étaient connus d'Aristote qui les appelait "Eulai". Ces derniers se trouvaient dans les chairs pourries et, entre autres, dans les plaies et les ulcères.

Aristote et Pline confondent les myiases et la maladie pédiculaire. Suivant Plutarque, Acaste mourut de cette maladie. Alcman, poète lyrique et

érotique, né vers 670 avant J.C., serait, d'après Aristote, mort d'une sorte de myiase. Elien fait un tableau hideux de la mort du philosophe Phérécyde qui habitait Syros, une des Cyclades, vers 550 avant J.C. et qui fut le maître de Pythagore :

> "Il lui survint une sueur brûlante et visqueuse qui produisit une multitude innombrable d'insectes. Tout son corps fut rongé par la vermine, son visage était si défiguré qu'il fut obligé de se séparer de ses amis".

Apulée prétend qu'à sa mort de nombreux serpents lui sortaient du corps (Pline, Liv. VII, ch. 51). Dans l'antiquité les myiases étaient considérées comme la punition d'un crime de lèse-divinité. Aussi les Déliens attribuèrent-ils au courroux d'Apollon la maladie de Phérécyde qui s'était vanté de n'avoir jamais sacrifié à aucune divinité et de n'en avoir pas mené une vie moins douce.

Le philosophe Speusippe, disciple de Platon, n'en était pas moins, suivant Diogène de Laerce, avare, violent et débauché. Environ 350 ans avant notre ère, il mourut à Athènes, dévoré par les vers.

La même cause fut assignée à la mort de Phérétime, mère d'Arcésilas, roi de Cyrène. Pour se venger des habitants de Barcé, elle fit crucifier autour de cette ville les plus importants d'entre eux. A son retour en Egypte elle périt misérablement dévorée par les vers. Hérodote affirme à ce sujet que les dieux châtient ceux qui poussent trop loin leur ressentiment (Hist., liv. IV, CC-CCV).

A la mort d'Alexandre le Grand, Cassandre, fils d'Antipater, fait périr la mère d'Alexandre, Olympias, puis le jeune fils du roi et s'empare du trône de Macédoine. Mais cette usurpation reçoit son châtiment. En 298 avant J.C. Cassandre meurt, selon Pausanias, d'une hydropysie compliquée par les attaques des vers.

Les Philistins qui avaient gardé l'Arche sainte dans le temple de Dagon furent tous atteints à la suite de ce sacrilège d'une maladie ulcéreuse des parties secrètes. Antiochus Epiphane, bourreau des Macchabées et profanateur du temple de Jérusalem, est frappé par le dieu des Juifs "d'une plaie incurable et horrible à voir ; du corps de l'impie sortaient des essaims de vers". Les chairs tombaient par lambeaux avec une si épouvantable puanteur que l'armée n'en pouvait souffrir l'odeur (Mach., liv. II, ch. 9, v. 1-8).

Trente ans plus tard, le dictateur Lucius Cornelius Sylla mourait les chairs corrompues et dévorées par une intarissable vermine. De cette mort, Plutarque rapproche celle de cet esclave syrien, Eunus, chef de la première guerre servile en Sicile. Diodore affirme qu'il fut jeté dans un cachot étroit et sale où il mourut au milieu de ses déjections, dévoré par les vers.

Hérode l'Ascalonite, roi de Judée, pour avoir persécuté les Juifs et profané le temple de Jérusalem, mourut dans de grandes souffrances. Les intestins étaient ulcérés et les parties génitales tellement corrompues qu'on en voyait sortir les vers (Josèphe, liv. XVII, ch. 8 à 10). Il mourut des suites de cette

affreuse maladie, comme Galère, empereur d'Orient, persécuteur des chrétiens, qui portait un ulcère répandant une odeur qui infectait le palais et la ville. Les entrailles étaient à nu, et des vers dévoraient le malade tout vivant. Plus d'une fois la douleur poussa Galère à vouloir attenter à ses jours et il fit mettre à mort les médecins impuissants à le soulager (Lactance).

Eusèbe et Lactance décrivent la mort identique de Maximin-Daïa dont les yeux et la langue pourris étaient rongés par des larves de mouches. Suivant saint Jean-Chrysostome, l'oncle de Julien l'Apostat mourut lui aussi rongé par les vers.

On peut voir quelquefois sous nos climats, particulièrement dans la région méditerranéenne, les plaies des animaux ou des blessés, lorsqu'elles sont restées découvertes un certain temps, sillonnées à leur surface de vers ou de larves, objets de répulsion, de dégoût ou de terreur.

Dans la seconde expédition d'Algérie, le général Guyon, chirurgien en chef de l'armée d'Afrique, vit des quantités innombrables de ces vers envahir les plaies, les appareils ou les vêtements des blessés. Larrey avait observé les mêmes particularités sur les blessés de Syrie, ajoutant que les incommodités éprouvées par les blessés l'obligeaient à renouveler les pansements jusqu'à trois ou quatre fois par jour et à pratiquer, pour détruire ces vers, des lotions amères et aromatiques.

Ces larves résultent de l'éclosion et du développement, parfois très rapide, des oeufs ou même des petites larves déposées par diverses espèces de mouches du genre Calliphore ou du genre Sarcophage.

Plus rarement, en l'absence de toute plaie, les mouches dont il est question peuvent infester de larves plus moins nombreuses un homme plongé pendant un certain temps dans un profond sommeil.

C'est le cas de Roullin, qui concerne un mendiant du Lincolnshire qui avait placé entre sa peau et ses habits la viande et le pain qui lui restaient de son dernier repas, et s'était endormi au bord d'une route. La viande, ayant attiré les mouches, fut bientôt couverte de larves qui passèrent à la chair vive. Lorsque cet homme fut emporté à l'hôpital, il était tellement dévoré par les asticots qu'il mourut quelques heures après son admission.

C'est encore le cas de Cloquet, rapporté par Raspail, et observé en 1827 à l'hôpital Saint-Louis. Un chiffonnier s'éveille au bout de trente-six heures dans un des fossés de Montmartre où il s'était endormi complètement ivre. On le trouve alors rongé par d'innombrables larves qui se sont insinuées sous les chairs, ce qui lui donne l'aspect d'un cadavre en putréfaction. Conduit à l'hôpital, le malheureux est délivré des vers qui le dévorent, d'abord par l'extraction directe, puis par des frictions mercurielles ; mais le cuir chevelu, soulevé par plusieurs abcès, rend la guérison impossible. Il meurt après d'atroces souffrances sans avoir repris connaissance.

Les larves des Phorides du genre *Aphiochaeta* produisent des myiases cutanées chez l'homme et les animaux. La Muscine des étables *(Muscina stabulans)*

et la Fannie scalaire *(Fannia scalaris)* pondent assez facilement sur une plaie souillée, elles ont été observées sur le singe, le lapin, le cobaye, le hérisson, sur divers oiseaux, sur l'homme.

Les mouches bleus, les Chrysomyies, les Lucilies, les Sarcophages peuvent déterminer des myiases de la même manière, mais les dégâts que provoquent leurs larves sont beaucoup plus étendus et les conséquences peuvent être graves. Le mécanisme de l'infection, toujours le même, est simple. Les oeufs mûrs ou les jeunes larves sont déposés par la mouche près de la plaie. Les larves néonates pénètrent dans les tissus qu'elles attaquent. La plaie s'agrandit, les larves creusent des galeries dans les chairs, provoquent des décollements et des délabrements purulents considérables. Dans ce cas une intervention chirurgicale et de larges désinfections s'imposent immédiatement.

L'action des larves des diverses espèces de Calliphorides est irrégulière. Celle de certains *Lucilia* peut être bénigne. C'est une race américaine du *Lucilia sericata* qui est utilisée en chirurgie pour le traitement de certaines plaies.

MYIASES INTESTINALES

Myiases animales — Les Gastérophiles sont les parasites gastricoles les plus connus. Ils habitent l'Eurasie, l'Afrique et l'Amérique. On en connaît près de trente espèces, dont les larves vivent normalement chez les Equidés. Les *teredon* ou "teignes" que les hippiâtres de l'antiquité décrivent comme des parasites de l'estomac et de l'intestin du cheval, sont des larves de Gastérophiles. Le mot *cossi,* également employé pour désigner les parasites des chevaux, serait synonyme de *teredon.* Selon Pline, les cosses s'engendrent dans le bois (liv. XI, 38, 1), et les gros vers du rouvre figurent parmi les mets les plus délicats (liv. XVII, 37, 4). Ce sont probablement les larves du grand capricorne, *Cerambyx heros,* du Prione tanneur, *Prionus coriarius,* ou du cerf-volant, *Lucanus cervus,* qui vivent dans le chêne.

Les Gastérophiles sont des mouches brunes, armées d'un oviscapte fortement chitinisé. Elles sont communes en été à l'air libre auprès des chevaux, des ânes et des mulets. Leur vie est très courte. Leur vol excessivement rapide produit un sifflement particulier qui amène chez les chevaux une frayeur particulière. Les jeunes animaux inquiétés cessent de manger et se cachent le nez dans l'herbe lorsqu'ils entendent la mouche bourdonner autour de leur tête. Ils chassent l'insecte avec leurs pieds ou rejettent la tête en arrière lorsqu'il essaye de toucher le menton, ou se mettent dans un état de panique susceptible d'amener des accidents avec les chevaux attelés.

Pendant les fortes chaleurs la mouche vient coller ses oeufs sur les poils qui avoisinent la bouche ou les lèvres, plus spécialement la lèvre inférieure des chevaux, la poitrine, les membres antérieurs ou la crinière. Deux à cinq mille oeufs peuvent être pondus par une seule femelle. Vallisneri, cité par Réaumur, en a compté plus de sept cents dans le corps d'une seule vache.

Les oeufs, longuement ovalaires, présentent une ouverture en clapet qui facilite l'éclosion ; la partie postérieure peut porter un appendice écailleux qui permet l'adhérence aux poils.

La larve primaire du Gastérophile équin n'éclôt que si un choc, provoqué par l'action de la salive ou des dents de l'hôte qui se lèche, amène la chute de l'opercule au pôle antérieur de l'oeuf. La jeune larve s'échappe et pénètre dans les muqueuses de la bouche et des lèvres, grâce à ses pièces buccales styliformes. Elle atteint le pharynx en cheminant sous l'épithélium des muqueuses buccales, où elle produit des lésions sinueuses et fistuleuses (Roubaud). Au début du deuxième âge les larves sont logées dans le pharynx. Pendant la durée des deuxième et troisième âges, elles se fixent à la surface du tube digestif, chaque espèce se localisant, dans une région déterminée ; dans l'estomac *(Gastérophilus intestinalis)*, dans l'estomac ou le rectum *(G. haemorrhoidalis)*, dans l'estomac et le duodénum *(G. pecorum)*. Ces larves provoquent des myiases stomacales, intestinales et rectales, sous forme de lésions alvéolaires, d'ulcérations ou de déchirures de la paroi. Elles peuvent pénétrer la muqueuse gastrique des chevaux où elles produisent des lésions susceptibles de dégénérer en carcinome.

Dans ses Mémoires sur l'Histoire des Insectes, Réaumur écrit (p. 548) :

> "c'est aussi à ces vers que M. Vallisneri a attribué la cause d'une maladie épidémique qui fit périr beaucoup de chevaux dans le Véronnois et le Mantouan en 1713. Les observations qui lui furent communiquées par le Docteur Gaspari ne permettent pas de douter que cette cause fut la vraie. Ce Docteur ayant disséqué quelques cavales mortes de la maladie épidémique trouva dans leur estomac une quantité si surprenante de vers courts, que pour nous en donner une idée il compare le nombre des vers qui y paroissoient à celui des grains d'une grenade ouverte ; chaque ver s'étoit, pour ainsi dire, fait une espèce de cellule en rongeant la membrane de l'estomac. Dans la cavité occupée par chaque ver, on pouvoit facilement loger un grain de bled de Turquie. Il est aisé de croire qu'un tel estomac étoit réduit à un pitoyable état ; ses membranes étoient ulcérées et puantes".

Les larves des Gastérophiles se rencontrent occasionnellement dans l'intestin ou l'estomac des carnivores ou d'autres animaux. On les a trouvées chez le blaireau, l'hyène, le chien, le vautour, le corbeau freux et le lapin. On les a observées chez l'homme, où elles peuvent occasionner une myiase stomacale. Au Danemark, en Russie et en Sibérie les jeunes larves provoquent chez l'homme une myiase rampante sous-cutanée ; dans ce cas la larve ne continue pas son évolution après le deuxième âge.

La vie des imagos est éphémère.

Prophylaxie : La myiase gastérophilienne s'observe surtout chez les animaux peu soignés ou chez ceux qui vivent pendant une grande partie de l'année dans les pâturages. Les chevaux à robe foncée sont plus contaminés que ceux qui ont une robe blanche. Les étés chauds et secs favorisent la pullulation des larves.

La prophylaxie consiste à tenir les chevaux proprement et à les panser souvent. Ces soins ne sont pas possibles quand les animaux demeurent plusieurs mois dans les prairies. Malgré les suggestions de M. Portier, aucune médication ne s'est montrée efficace jusqu'à présent, les larves des Gastérophiles résistent à la plupart des agents chimiques. Lorsqu'elles siègent dans le rectum ou sur le pourtour de l'anus on peut les enlever à la main. Il faut les détruire immédiatement.

Les Gastérophiles, que l'on trouve parfois en quantités immenses chez le zèbre, le rhinocéros, l'éléphant et le chameau, appartiennent à des espèces distinctes encore peu connues. Les Gyrostigmines sont de grandes mouches brunes, longues de vingt millimètres ou plus, remarquables par le deuxième article antennaire allongé et foliacé, qui enveloppe le troisième article. Elles déposent leurs oeufs sur la partie antérieure du corps des Rhinocéros. En Afrique les larves vivent en quantités considérables dans l'estomac et l'intestin du *Rhinoceros bicornis* et à Sumatra elles parasitent les *Rhinoceros lasiotis* et *sumatrensis*.

Les Diptères parasites sont répandus sous les tropiques avec une abondance extraordinaire. En Afrique le pays des Cafres paraît être particulièrement infesté par les Oestrides. Pendant son voyage dans ces contrées Ad. Delegorgue n'a pu voir sans étonnement l'énorme quantité de larves dont étaient tourmentés les mammifères qu'il tuait à la chasse :

> "Les animaux sauvages de cette partie de l'Afrique (pays des Cafres Amazoulous) avaient cela de particulier que toutes les espèces étaient habitées par des quantités considérables d'Oestres. Les *Catoblepas gnou* et *gorgon* en laissaient tomber à tout moment par les narines. L'*Acronotus lunatus*, dont je sciais fréquemment les cornes avec une partie du crâne, présentait sous leur naissance une cavité qui en était toujours remplie. Le *Redunca Lalandii* portait sous la peau des insectes imparfaits, à l'état de chrysalides, dont la forme indiquait un Diptère assez volumineux. Chacun d'eux était contenu dans une vésicule qu'il était facile d'extraire, et alors se voyait à nu l'insecte adhérent par l'anus à la peau, où un petit trou le mettait en rapport avec l'air extérieur. Ces chrysalides longues de 13 millimètres, paraissaient diaphanes, incolores ; l'on ne distinguait à l'intérieur qu'un viscère noir. Une femelle de *Redunca Lalandii* que je tuai en comptait trente-quatre de même espèce.
>
> "Le *Rhinoceros simus* en avait aussi quelque peu, non sous la peau, mais dans son estomac. Le *Rhinoceros Africanus bicornis* pourrait bien réclamer le titre de père nourricier des Oestres ; on ne

saurait s'imaginer la quantité contenue dans son estomac : c'était à les mesurer au boisseau, à les prendre à la pelle.

"Cette différence en nombre est constante chez les deux espèces, et j'incline fortement à penser que le *Rhinoceros Africanus bicornis* ne doit sa méchanceté, la fureur qui le distingue qu'à la présence de ces milliers de parasites, absolument comme l'homme qu'habite le *Taenia*.

"Cependant, malgré leur nombre, qui semble quelquefois dépasser toutes limites naturelles, les Oestres n'entraînent pas, que l'on sache, la mort des animaux indigènes".

Les Cobboldiidés, qui forment une famille spéciale, renferment de magnifiques mouches, glabres, noires ou vert métallique, à tête jaune. Elles sont ovipares et leurs larves couvertes d'une peau épaisse, blanche et nacrée, vivent en colonies compactes dans l'estomac et l'intestin des éléphants d'Asie et d'Afrique.

Myiases humaines — Chez l'homme les myiases intestinales sont produites par l'ingestion et le développement consécutif de larves de mouches dans le tube digestif. Las larves arrivent le plus souvent dans l'estomac avec des substances alimentaires avariées, laitages, viandes fumées ou fromages avancés. Le pronostic peut être grave s'il s'agit de mouches supérieures.

On a signalé les *Sarcophaga haemorrhoidalis, carnaria,* le *Calliphora erythrocephala,* le *Muscina stabulans,* le *Musca domestica,* le *Fannia canicularis*. Les larves de toutes des espèces provoquent des vomissements, des vertiges, des nausées, des maux de tête. L'action des crochets buccaux détermine des coliques et des entérites sanguinolentes. Un véritable état typhoidique peut survenir avec hémorrhagies intestinales. On provoquera le plus rapidement possible l'expulsion des larves. Celle-ci aménera la guérison du malade.

La myiase intestinale la plus connue et la moins grave a pour cause la mouche du fromage, *Piophila casei*. Elle est avalée à l'état d'oeuf ou de larve avec le fromage ou la graisse de jambon salé ou fumé, où elle se trouve parfois en quantité. Elle peut vivre longtemps dans l'intestin et lorsqu'elle existe en grand nombre le patient peut subir des crises de colique.

La larve de la mouche du fromage peut être accompagnée par celles de diverses espèces de Drosophiles ou de Phorides du groupe des *Aphiochaeta xanthina* et *rufipes*.

Diodore de Sicile (liv. III, ch. 28) mentionne ce qui suit à propos d'une peuplade africaine, les Acridophages :

"La fin de leur vie est aussi singulière que misérable. A l'approche de la vieillesse il s'engendre dans leurs corps des poux ailés de différentes formes et d'un aspect repoussant. Cette maladie commence d'abord par le ventre et par la poitrine, et gagne peu à peu tout le corps. D'abord le malade, irrité par une violente démangeaison, éprouve à se gratter un certain plaisir mêlé de douleur. Ensuite,

comme cette vermine se multiplie sans cesse et gagne la surface de la peau, il s'y répand une liqueur subtile d'une âcreté insupportable. Le malade se déchire la peau avec les ongles et pousse de profondes lamentations. Des ulcères des mains il tombe une grande quantité de vers, qu'on perdrait son temps à les ôter ainsi, car ils se succèdent les uns les autres comme s'ils sortaient d'un vase percé de trous. Voilà comment les Acridophages finissent une vie misérable par la décomposition de leur corps ; et on ne saurait dire si c'est à la nourriture dont ils usent ou à l'intempérie de l'air qu'ils respirent qu'on doit attribuer cette étrange maladie".

C'est probablement à la nourriture farcie de larves de Sarcophagides que l'on peut attribuer la myiase intestinale mortelle qui sévissait parmi les Acridophages.

Prophylaxie : Une exacte propreté des aliments, des cuisines et des personnes permettra d'éviter les diverses myiases intestinales. Les aliments seront protégés contre les visites des mouches. L'inspection des viandes décelera toujours les larves. L'odeur est suffisante pour signaler la présence des asticots des mouches supérieures sur les aliments. Les végétaux envahis par les larves des Muscides pourrissent rapidement. Un lavage soigneux et une cuisson sérieuse désinfecteront dans tous les cas les substances alimentaires susceptibles d'être cuites. Les fromages, les vins, les laitages et les fruits pouvant être colonisés par les larves seront nettoyés ou filtrés. En été, même dans les régions tempérées, les défenses contre les mouches génératrices de myiases doivent être vigilantes et minutieuses.

BIBLIOGRAPHIE

Austen, E. E., 1910, Dipterous Insects which cause Myiasis in Man. *Trans. Soc. Trop. Med.*, 3 : 215-242.

Bequaert, J., 1916, Parasitic Muscid from the African Elephant. *Bull. Amer. Mus. N. Y.*, 35 : 377-387.

Brauer, F. M., 1863, *Monographie der Oestriden*, 292 pp., 10 pls., Wien.

Brumpt, E., 1933, Recherches sur la myiase des Batraciens provoqueé par la mouche Lucilia bufonivora. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 197 : 1777-1779.

Brumpt, E., 1936, *Précis de Parasitologie*, 5e. ed., XII + 2139 pp., 1085 figs., 1 est., Paris.

Curran, C. H., 1939, The human bot-fly, *Nat. Hist.*, 44 : 45-48, 2 figs.

Delanoe, P., 1922, Myiases du bétail causées par une mouche. *Bull. Sci. Nat. Maroc*, 2 : 132-136, 1 fig.

Delegorgue, 1847, *Voyage dans l'Afrique australe*, Paris.

Dinulesco, G., 1932, Biologie des Gastrophiles. *Ann. Sci. Nat.*, 15 : 1-183, 8 pls., 43 figs.

French, G. H., 1904, Gastrophilus epilepsalis larvae and epilepsy. *Canad. Ent.*, 36 : 83-84

Moulé, L., 1908, Parasitologie dans la littérature antique. *Arch. Parasit.*, 13 : 251-264.

Neveu-Lemaire, M., 1938, *Entomologie médicale et vétérinaire, XXVII* + 1339 pp., 597 figs., Paris

NIELSEN, J. C., 1912, Mydaea anomala, a parasite of S. American birds. *Vid. Med. Naturh. Foren.*, 64 : 215-248, 42 figs.

PATTON, W. S., 1920, Arthropods of Medical and Veterinary Importance. *Bull. Ent. Res.*,

PATTON, W. S., 1920-1922, Arthropods of Medical and Veterinary importance. *Ind. J. Med. Res.*,

PAVLOVSKY, E. N. & STEIN, 1924, Gasterophilus larvae in human skin. *Parasitology*, 16 :

PORTCHINSKY, J. A., 1884, Sarcophilae Wohlfahrti Monographia. *Hor. Ent. Ross.*, 18 : 247-314.

PORTCHINSKY, J. A., 1916, Sarcophilae Wohlfahrti Monographia. *Mem. Bur. Ent. Min. Agric.*, 11.

PORTIER, P., 1911, Recherches physiologiques sur les Insectes aquatiques. *Arch. Zool. Exper.*, 8 : 89-379.

RODHAIN, J., 1919, Passeromyia heterochaeta. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 52 : 499-510.

RODHAIN, J. & BEQUAERT, J., 1916, Diptères parasites d'Afrique. *Bull Sci. Fr. Belg.*, 50 : 53-165.

ROUBAUD, E., 1914, *Faune parasitaire de l'Afrique occidentale française.* 251 pp., 4 pls., 70 figs., Paris.

ROUBAUD, E. & PERARD, C., 1924, Extraits d'oestres et l'immunisation. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 17 : 259-272.

SALEM, H. H., 1938, Revision of the genus Wohlfahrtia. *Egypt. Univ. Fac. Med.*, 13 : 90 pp., 26 figs.

SEGUY, E., 1928-1941, *Mouches parasites. Encycl. Entomologique.*

SERGENT, ED. & SERGENT, ET., 1907, La Thim'ni, myiase humaine d'Algérie causée par l'Oestrus ovis. *Ann. Inst. Pasteur*, 21 : 392-399.

THEBAULT, V., 1901, Hémorrhagie intestinale et affection typhoide causée par des larves de Diptères. *Arch. Parasitol.*, 4 : 353-361.

VANEY, C., 1924, L'Hypoderme du Boef. *Rev. Gen. Sci.*, 35 : 544-552, 6 figs.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 113-126
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

LA PENICILINA EN LA PURIFICACION DE LA VACUNA ANTIVARIOLICA [1]

JUAN B. RIVAROLA y ARQUIMEDES CANESE
Instituto de Higiene, Asunción, Paraguay

(Con 10 figuras)

En el mes de Agosto del año 1946, ensayábamos en el Instituto de Higiene, el estudio de una cepa de *Penicillium notatum*, que el Profesor Souza Araujo, del Instituto Oswaldo Cruz de Rio de Janeiro, remitiera al Profesor Luis E. Migone, cuya amabilidad hizo que llegara a nuestras manos. Considerando la posibilidad de encontrar una aplicación práctica de las pruebas que realizábamos, nos pareció importante orientar nuestras experiencias de acuerdo con las propiedades de la penicilina señaladas por FLEMING — empleando el cultivo fertil de *Penicillium notatum*, en la depuración del virus vaccínico, cuya contaminación bacteriana grampositiva, era difícil disminuir, aún después de largos meses de conservación en glicerina, a bajas temperaturas. En aquella época, era imposible disponer de penicilina Standard, en razón de las dificultades impuestas por la guerra mundial. Debimos pues iniciar nuestras primeras investigaciones, usando el producto de cultivo fértil de *Penicillium notatum*, sin entrar a discriminar sobre las unidades Oxford presentes en la penicilina obtenida en el medio líquido que servía para nuestros primeros ensayos.

Representa nuestro trabajo, el fruto de tres años de experiencias y de estudios de muchos problemas, que, en su trascurso fueron señalándose, y que solo el tiempo podría resolverlos. No creemos haber dilucidado todos esos problemas, ni solucionado definitivamente la complejidad técnica de la purificación por métodos químicos empleados en la preparación de la vacuna antivariólica. Esta segunda comu-

[1] Recebido para su publicación en el 5 de Septiembre de 1947.

nicación, no tiene otro objeto, que sugerir a los conservatorios de vacuna antivariólica, el contralor de nuestras experiencias, en beneficio de un método de tan halagueñas perspectivas y de tanta importancia práctica y sanitaria.

PURIFICACION DE LA PULPA CON FILTRADO DE CULTIVO DE PENICILLIUM NOTATUM

En una comunicación anterior (1) [2], nos habiamos ocupado de los primeros resultados obtenidos, tratando de purificar da pulpa vacunal por mezcla con el líquido de cultivo fértil de *Penicillium notatum,* en medio de Czapek-Dox, modificado por Hobby y colaboradores, probando la actividad de esta mezcla.

Haciendo el recuento de gérmenes contenidos en el complejo *penicilina-pulpa glicerinada,* de pulpas de más de um año y de pulpas glicerinadas de reciente recolección, por siembras en placas de agar y contage de colonias a las 24 horas de incubación a 37.°, habíamos constatado una merma notable de gérmenes, y habíamos visto también, que esa merma parecía deberse a la desaparición de los cocos grampositivos, en un periodo de una a tres semanas, hecho comprobado posteriormente por siembras sucesivas y seriadas.

Desde que la flora bacteriana resiste en las pulpas glicerinadas a largos meses de conservación en la refrigeradora, a bajas temperaturas, y que una vez incorporado a la pulpa triturada y tamizada el producto de cultivo de *Penicillium notatum,* esa flora disminuía notablemente en pocos dias, en las mismas condiciones de conservación, se hizo para nosotros evidente la acción bactericida de dicho producto y la posibilidad de aplicarla a la depuración de la vacuna antivariólica, toda vez que no se alterara en el proceso la actividad del virus.

Practicamos entonces, pruebas de inmunidad cruzada, empleando pulpas glicerinadas en condiciones técnicas habituales, y estas mismas pulpas tratadas préviamente con el producto de cultivo de *Penicillium notatum.* Utilizamos conejos y terneras, que reinoculados, después de tres meses de la primeira inoculación positiva y de evolución normal, resultaron negativas a esta segunda inoculación.

Empleamos para estas experiencias la pulpa glicerinada número 135, que al cabo de un año de conservación en la congeladora, mostraba 200.000 gérmenes, y que a los 19 dias de agregado el cultivo fertil de *Penicillium notatum,* había disminuido su flora bacteriana a 147 por cc.

El 24 de Octubre de 1944, repetimos estas experiencias, empleando de esta vez, pulpas glicerinadas de reciente recolección (N.° 142), obtenida de

[2] Comunicación presentada el 20 de Noviembre de 1944, a la Sociedad de Medicina y Cirurgia del Paraguay, y en la Sesion del 28 de Noviembre de 1944, a la Sociedad de Biologia de Rio de Janeiro (Brasil).

una ternera inoculada el 16 de Octubre, que triturada y tamizada dió un contenido inicial de 30.000.000 de gérmenes por cc. En los contages sucesivos, el número de gérmenes había disminuído a 5700 a los 19 dias, y a 1000 por cc. a los 45 dias de adicionado el líquido de cultivo fértil de *Penicillium notatum* y de mantenida en la congeladora a la temperatura de -10°C.

Ante resultados tan halagueños, decidimos orientar nuestras investigaciones hacia la depuración de la vacuna antivariólica destinada a uso humano, sin esperar la dilucidación de algunos problemas presentes, a saber: *cual sería*

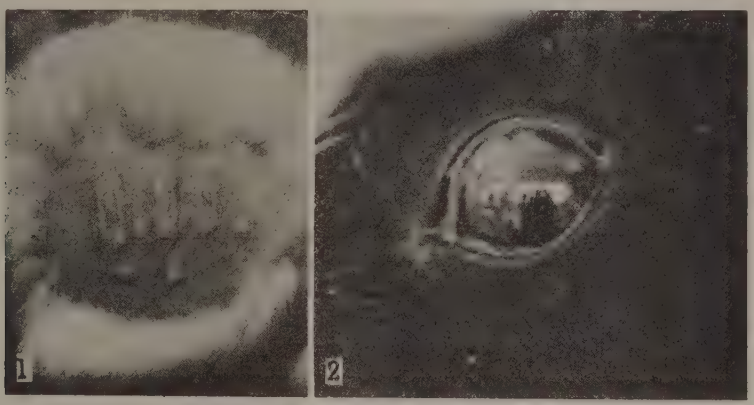


Fig. 1 — Conejo inoculado con pulpa glicerinada tratada previamente con líquido de cultivo de *Penicillium notatum* (7° a 8° dias): las lesiones circulares han sido producidas por simple puntura. Fig. 2 — Método de Gins: obsérvese la lesión preferentemente en la parte superior izquierda del flojo.

la tasa mínima de penicilina medida en unidades de actividad que realizaría una óptima depuración en un mínimo de tiempo y con el mínimo de acción sobre el virus, y cual sería la acción del producto de penicilina incorporada a la vacuna en un tiempo mayor que el observado por nosotros.

Hasta aquí hemos operado por la incorporación del cultivo fértil de *Penicillium notatum,* simplesmente filtrado por dobleces de gaza esterilizada, en proporción de 1/3 a 1/5 del volúmen total de la pulpa glicerinada, triturada y tamizada, sin determinación previa de la cantidad de unidades incluidas en tales volúmenes.

Entre tanto llegáramos a tales precisiones, trabajando con pulpas glicerinadas de reciente recolección y penicilina Standard, difícil de obtener, nos propusimos ensayar para vacunación humana, previo controles de actividad en conejos en diluciones a 1/10, 1/100 y 1/1000, y método de Gins en cobayos hasta diluciones a 1/5000, las pulpas glicerinadas n.° 135 (recolectada el 12-X-1943), n.° 137 (recolectada el 28-III-1944) y n.° 142 (recolectada el 21-X-1944), a las que nos hemos referido y cuyas floras bacterianas habían sido prácticamente anuladas por el agregado del producto de cultivo de *Penicillium notatum*.

Practicamos personalmente las primeras vacunaciones, en primovacunados y revacunados, comprobando en los primeros, en forma normal los procesos de incubación, aparición de las pápulas, trasformación en vesículas y constitucion de las pústulas, sin reacción alguna, ni local ni a distancia ; y en los segundos los diversos tipos de reacciones alérgicas primarias inmediatas o aceleradas, sin llegar a constituirse en vesículas, desarrollándose en dos o tres dias para retroceder al 4.º dia con cicatrización. En los primovacunados esta cicatrización se completaba en general al vigésimo o al vigésimo quinto dias.

Habíamos recomendado como técnica de vacunación la escarificación longitudinal única, o la simple puntura con agujas hipodérmicas, distribuyendo en el mes de Febrero de 1945, la cantidad de 50.000 dosis de vacunas preparadas en las condiciones de purificación enumerada, las que fueron remitidas al Cuerpo Médico Escolar, a los servicios sanitarios del Ejército y a la Colonia Ferhein de Menonitas del Chaco Paraguayo. Las informaciones anotadas de esta primera vacunación en masa con el producto así purificado fueron de óptimos resultados.

ACCION DE LA PENICILINA STANDARD SOBRE LA PULPA GLICERINADA

En una segunda serie de experiencias, operando con penicilina Standard de Winthrop Products Inc. de Nueva York, ensayamos la purificación sobre pulpas glicerinadas de más de seis meses de conservación en la congeladora y

Fig. 3 — Primovacunada con virus vaccínico purificado con cultivo de *Penicillium notatum*, método de escarificación longitudinal (6º a 7º dia). Fig. 4 — Primovacunado 7º a 8º dia ; la lesión circular superior ha sido producida por puntura simple con aguja hipodérmica, la inferior por escarificación longitudinal.

pulpas glicerinadas de reciente recolección, adicionadas de penicilina en medidas que oscilaban entre 1000 a 3000 unidades Oxford por cc., haciéndola actuar sobre pulpas trituradas y tamizadas con dilución final al 1/5 .

Los recuentos de gérmenes se practicaron sucesivamente a las 24, 48 y 72 horas de intervalo, repetidos hasta tres meses después siempre sobre diluciones decimales corrientes, siembras en anaerobiosis y pruebas de actividad en conejos y cobayos.

Las reducciones comprobadas a las 24 y 48 horas eran notablemente importantes; más o menos de 5000/1, con desaparición total de la flora grampositiva, aún después de varias semanas, en que es de suponer, la penicilina haya perdido toda su actividad.

Esta acción rápida, eficáz y permanente de la penicilina Standard venía, pues, a corroborar nuestras anteriores comprobaciones, abriendo sin embargo, un nuevo interrogante en relación a la influencia que pudiera ejercer sobre el virus y su actividad, empleada en dosis muy superiores a las que hasta aquí veniamos ensayando.

ACCION DE LA PENICILINA SOBRE EL VIRUS VACCÍNICO

Si bien comprendíamos que no podía descartarse la influencia del tiempo sobre las cualidades del virus y de su actividad, considerábamos que ese factor era remoto, desde que veníamos usando la mezcla *penicilina-pulpa glicerinada*, en el momento de la trituración fina y de la tamizacion, esto es, próximo a expedirse para uso humano.

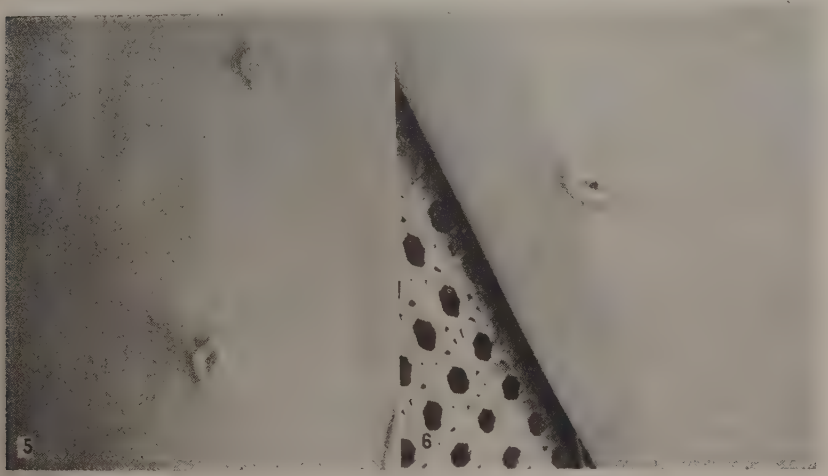


Fig. 5 — Primovacunado 8° a 9° dia, escarificación longitudinal única con aguja hipodérmica. Fig. 6 — Primovacunado 9° a 10° dia, escarificación longitudinal única.

Por otra parte, los controles de Gins y de Calmette, que realizamos en periodos de ocho dias e intercalados hasta tres meses después del tratamiento de

la pulpa con penicilina, habían venido confirmando nuestras presunciones de que, aun en dosis altas y por lo menos en los periodos de tiempo observado por nosotros, la penicilina no actuaba sobre la actividad del virus.

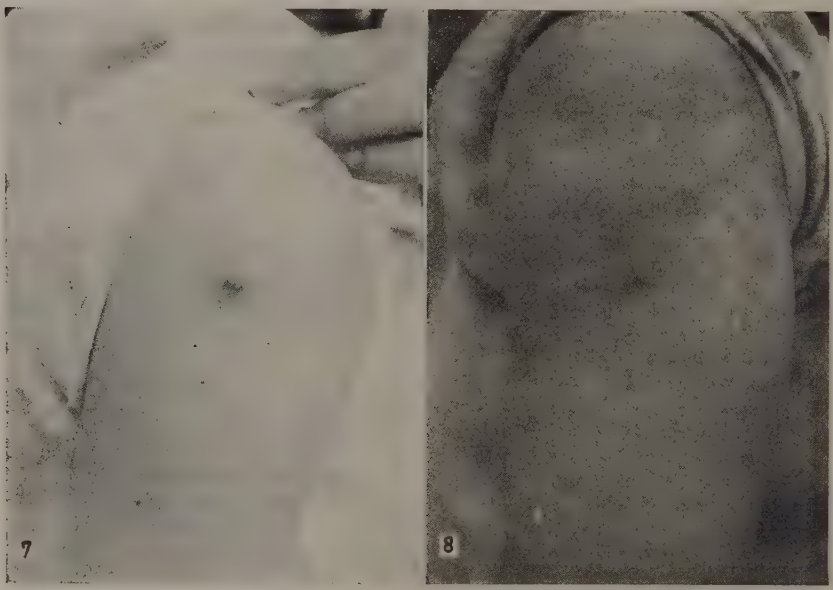


Fig. 7 — Primovacunada a los 7 años, revacunada a los 25 años ; linfa purificada con penicilina Standard, tratada a los ocho días de recolección. Fig. 8 — Revacunada con linfa purificada por líquido de cultivo de *Penicillium notatum*. (Nótese la cicatriz de la vacunación anterior (Tercer dia)).

Necesitábamos empero, descartar esa influencia del tiempo. Para el efecto, usamos la pulpa bruta n.º 150, recolectada el 14 de Noviembre de 1946, a la que se había adicionado exclusivamente penicilina (5000 unidades por gramo), sin el agregado de glicerina, manteniéndola en la conservadora a —10ºC.

El 24 de Abril de 1947, esto es, cinco meses despues, sometimos esta pulpa a trituración fina y tamización, haciendo el contage de gérmenes, sin tratamiento previo, encontrándonos con una linfa *completamente estéril,* hecho comprobado por siembras sucesivas sobre placa de agar y recuentos a las 24, 48 y 72 horas. Las siembras en anaerobiosis mostraron asimismo escasa germinación, sin acción patógena sobre animales pequeños inoculados.

Faltaba precisar si el vírus habría sufrido alguna modificación en sus cualidades y en su actividad. Para el efecto recurrimos a las pruebas de Gins y de Calmette y a vacunaciones cruzadas, obteniendo resultados normales y concordantes con nuestras anteriores experiencias.

No obstante estos resultados, esperamos completarlas operando sobre pulpas mantenidas en la congeladora y adicionadas exclusivamente de penicilina por un periodo mayor de uno a dos años.

Diaz Romero, que en Montevideo hiciera estudios de importancia sobre la penicilina en la purificación del vírus vaccínico, ha obtenido resultados concordantes, que se ajustan con nuestras experiencias, cuando dice :

> "Sobre la acción de la penicilina "in-vivo", sobre el vírus vaccínico, se encuentra en la literatura escasa referencia, entre las que citaremos una comunicación de Andrews, King y Van der Ende, de 1943, en que estudia la acción de la penicilina inyectada al ratón inoculado con virus vaccínico, llegando a la conclusión de que su efecto terapéutico es nulo. Nosotros hemos experimentado al respecto, vacunando sujetos, en el curso de una terapia intensiva de la

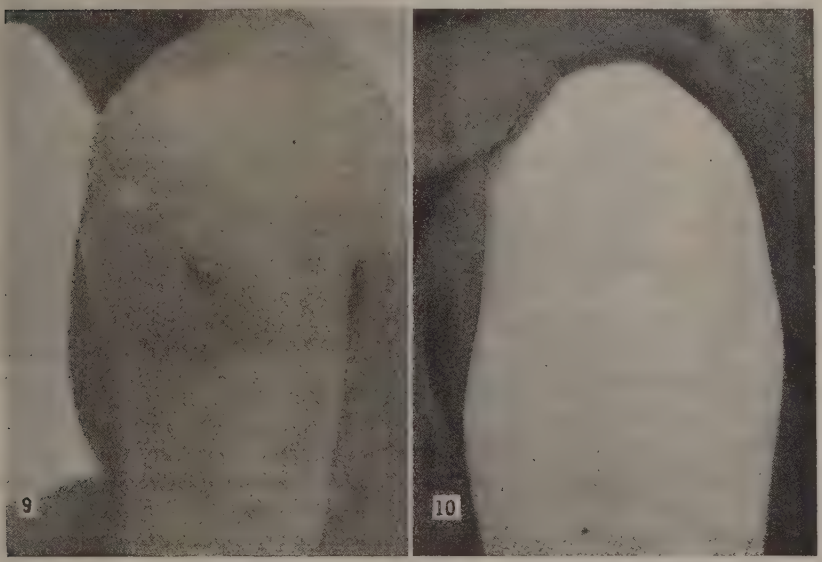


Fig. 9 — Primovacunado en la infancia, revacunado a los 15 años, con linfa purificada con penicilina Standard. (Nótese la cicatriz de la vacunación anterior). Fig. 10 — Cicatriz a los 23 dias de primovacunación, linfa purificada con penicilina Standard.

> sífilis con penicilina, que reciben más de 100.000 unidades Oxford por dia, durante diez dias. Estos enfermos así tratados, con una carga de penicilina en la sangre que es suficiente para obtener la curación clínica y serológica de su sífilis, primovacunados en ese momento, desarrolan su primovacunación normal en su aspecto y evolución, con la reacción febril correspondiente, primovacunación que tampoco es interferida en su efecto inmunizante, pues una revacunación practicada unos meses después muestra su completo estado de inmunidad. Esta experiencia como la de Andrews y colaboradores muestra la falta de acción "in-vivo" de la penicilina sobre el virus vaccínico".

El Dr. Raul Bustamante, médico-jefe del Hospital de Enfermedades Infecciosas y Tropicales de Asunción, ha corroborado estas experiencias. A nuestro requerimiento, ha tenido la amabilidad, que agradecemos, de comunicarnos en nota H.I.T. Número 227, de fecha 29 de Julio de 1947, lo seguiente :

> "Debido a la existencia de la actual epidemia de Alastrin, hemos procedido a la vacunación antivariólica sistemática de todo paciente internado en el Hospital de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Hemos tenido oportunidad así, de comprobar que los enfermos sometidos a tratamientos penicilínicos con dosis diarias de 120.000 a 200.000 U. dan reacciones de vacunación positivas en porcentages semejantes al de los restantes enfermos. Revacunaciones positivas, con reacciones aceleradas hemos visto tambien en pacientes sifilíticos que estaban recibiendo 400.000 U. de penicilina diariamente, como tratamiento específico".

Nos parece oportuno consignar, que, las vacunas antivariólicas a que hace referencia el Dr. Raul Bustamante, han sido preparadas con la técnica de purificación por penicilina.

En cuanto a la acción de la penicilina sobre el virus vaccínico "in vitro", las conclusiones de Diaz Romero, son también concordantes con nuestras experiencias, cuando afirma que :

> "entre porciones de un mismo virus, adicionada y no adicionada con penicilina ha encontrado que eran activas en las mismas condiciones de dilución, manteniéndose mismo hasta dos meses después".

Estas experiencias han sido constatadas por nosotros en gran número de casos, desde la iniciación de nuestros estudios, operando no solo sobre terneras y animales pequeños, sino que también por vacunaciones repetidas en individuos primovacunados y revacunados con intervalos de tiempo de un mes a dos años, con resultados siempre constantes de reacciones tipicas normales por su aspecto y evolución.

Gohar & Basharli, del Departamento de Bacteriología de la Facultad de Medicina del Cairo, sospechando que la glicerina usada en la preparación de la vacuna antivariólica, podría ser responsable de algunos resultados anómalos obtenidos de su aplicación humana, pensaron que en la purificación de la linfa sería ventajoso el empleo de la penicilina, realizando con ese fin, algunas pruebas experimentales para llegar a las siguientes conclusiones :

> "(1) Glycerine is superior to penicilin in the purification of vaccine lymph. (2) Penicillin seems to be capable of inactivating the vaccínia virus. When injected into rabbits within 24 hours after inoculation with a rabbit-passed vaccinia virus, the typical lesions of vaccinia fail to develop. Injected later than this, it does not affect the course of the disease. Unless treatment is extended to a minimum of five days, the lesions appear after some delay. Paren-

teral treatment seems to be aided by local treatment. (3) The trial of penicillin in the treatment of variola is sugested".

Estas conclusiones no se ajustan con los resultados de nuestras experiencias y las anotadas por Diaz Romero, a que nos hemos referido.

DOSIS MINIMA DE PENICILINA Y PURIFICACION

Con el propósito de determinar la dósis mínima de penicilina Standard, necesaria a fin de reducir al máximo la flora microbiana, en un mínimo de tiempo, realizamos las siguientes experiencias que extractamos en el Cuadro 1.

CUADRO 1

NÚMERO	U. de P. por cc.	Contage 48 horas	Contage 8 dias
1	5 000	930 por cc.	630 por cc.
2	3 000	1 030 por cc.	480 por cc.
3	2 000	1 050 por cc.	550 por cc.
4	1 500	1 000 por cc.	915 por cc.
5	1 000	915 por cc.	750 por cc.
6	750	1 100 por cc.	580 por cc.
7	500	2 100 por cc.	650 por cc.
8	400	5 550 por cc.	900 por cc.
9	300	31 400 por cc.	680 por cc.
10	200	Incontable	915 por cc.
11	100	Incontable	2 800 por cc.
12	10	Incontable	4 530 por cc.
Testigo	—	Incontable	Incontable

Para estas pruebas empleamos frascos esterilizados de vidrio de 25 cc. con cierre de goma, haciendo diluciones decimales sucesivas, en base a la solución de penicilina y 2 cc. de pulpa glicerinada de reciente recolección, triturada y tamizada con dilución final a 1/5.

Deducimos de estas experiencias, que, la cifra media de indudable acción bacteriolítica rápida, oscila entre 750 a 1000 unidades Oxford de penicilina Standard por cc., y que mismo en concentraciones muy bajas, sigue notándose una reducción proporcional y apreciable, acentuándose su acción, aún despues de ocho dias de conservación en la refrigeradora a bajas temperaturas.

ACCION DE LA PENICILINA SOBRE CLOSTRIDIUM TETANI ADICIONADA A LA PULPA

A fin de estudiar la acción de la penicilina sobre la flora anaerobia, y en especial sobre el *Clostridium tetani*, cuya presencia eventual en las pulpas importa un grave peligro, iniciamos una serie de experiencias preliminares con la inclusión de un cultivo puro de *Clostridium tetani*, a la linfa triturada y tamizada con dilución final a 1/5, por el agregado de glicerina y soluciones seriadas de penicilina Standard.

Los primeros resultados obtenidos, han sido de indudable importancia, en relación a la eventual contaminación de las pulpas por este gérmen y su eliminación total, por acción de la penicilina en dosis conocidas. Las conclusiones finales de estos estudios, las consignaremos en una comunicación posterior.

ACCION DE LA PENICILINA SOBRE LOS ESPORULADOS SAPROFITOS

Como complemento de la acción de la penicilina sobre la flora de contaminación de las linfas vaccínicas, realizamos otra serie de investigaciones encaminadas a estudiar su acción sobre la flora esporulada, en general saprófita que contamina las pulpas.

Para el efecto operamos sobre una pulpa de diez dias de recolección, la que una vez triturada y tamizada con dilución final a 1/5, fue tratada con diluciones seriadas de penicilina Standard en dosis de 2000, 7500 y 10.000 unidades por cc. sin detenernos en clasificaciones o identificaciones cualitativas, siendo como era nuestro objetivo el control cuantitativo de la contaminación.

De que estabamos en presencia de gérmenes saprófitos, nos dieron prueba las siembras en anaerobiosis, las que inoculadas en cobayos no produjeron ningun sintoma durante todo el tiempo de nuestra observación. No obstante estos resultados, repetimos estas inoculaciones, empleando cultivos muy pobres, de estas mismas pulpas tratadas prèviamente con penicilina, sin que tampoco se presentaran síntomas durante un largo período de observación.

En cuanto al control cuantitativo, de la contaminación, resumimos los resultados en el Cuadro 2, en el que se anota que la acción de la penicilina sobre estos esporulados se inicia en las pulpas con una carga mínima de 5000 unidades, desapareciendo totalmente desde las 48 horas, en las pulpas con un contenido de 7500 a 10.000 unidades.

CUADRO 2

NÚMERO	Penicilina por cc.	48 horas	Ocho dias	Inoculación
1	Testigo	+ + +	+ + +	S/S
2	2 000 unidades	+ +	+	S/S
3	5 000 unidades	+	—	S/S
4	7 500 unidades	—	—	S/S
5	10 000 unidades	—	—	S/S

TECNICA DE PREPARACION DE LA VACUNA ANTIVARIOLICA USADA EN EL INSTITUTO DE HIGIENE

La purificación de la pulpa vacunal, ha constituido y constituye uno de los procesos más complejos y delicados de la técnica de preparación de la vacuna antivariólica. Este processo importantísimo y fundamental se ha querido resolver haciendo intervenir agentes químicos, fisiocoquímicos, físicos y biológicos, sin lograrse empero, eliminar en forma absoluta la contaminación microbiana, o los peligros de la disminución de la actividad del vírus.

Entre los procesos químicos, el método de purificación por la glicerina ha sido universalmente adoptado, después de los estudios de FEILER y posteriormente de KIRCHNER, habiéndose introducido en la técnica, desde el año 1886, por MÜLLER, Director del Instituto Vacinógeno de Berlin.

En el Paraguay, si bien existían servicios para la preparación de vacuna antivariólica, el país no contó con instalaciones adaptadas para estos fines, hasta el año 1941, en que fué inaugurado un pabellón en el Instituto de Higiene, con dependencias para animales en observación, boxes, mesas apropiadas de contención, sala de vacunación y recolección de las pulpas con dispositivo para agua esterilizada, conservadora a —10°C., y un laboratorio de bacteriologia anexo, para el tratamiento de la pulpa, así como jaulas para animales pequeños, conejos y cobayos, destinados a las pruebas biológicas.

La técnica de purificación por la glicerina fue empleada en el país desde el año 1898, por el Dr. DAVID LOFRUSCIO, el primero que en el Paraguay dirigió el Conservatorio de Vacuna Antivariólica. Todavía en el año 1927, venía usándose el mismo *Cow-pox*, hasta que el Dr. ROGELIO URIZAR, Director a la sazón, del Instituto Nacional de Parasitologia, introdujo algunas mejoras en el servicio, obteniendo asi mismo, un nuevo *Cow-pox* de procedencia argentina, que periódicamente por pasages en conejos, sigue usándose en el Instituto de Higiene con algunas modificaciones técnicas en relación con las condiciones de local y material.

En el año 1939, con motivo de una visita que hiciera al Instituto de Higiene, el Dr. JOHN D. LONG, Comisionado Viajero de la Oficina Sanitaria Panamericana, pudimos contar con otro nuevo *Cow-pox*, que con la designación de Mulford, nos remitiera desde Filadelfia.

Como complemento de esta comunicación, consideramos oportuna una breve reseña informativa, sobre las normas seguidas por el Instituto de Higiene para la preparación de la Vacuna Antivariólica y su purificación.

Elección de animales — El Instituto no cuenta con rebaño propio. Las terneras de 8 a 10 meses de edad, son generalmente adquiridas de tambos próximos al Instituto, las que permanecen en observación durante varios dias, siendo sometidas a la tuberculinización y vigilancia en cuanto a la Fiebre Aftosa. Simultáneamente son sometidas a un baño garrapaticida, en razón de la frecuencia de Ixodideos en los rebaños del pais.

Vacunación de las terneras — Tres dias antes de la vacunación, los pelos de la región son convenientemente cortados con una máquina especial de tusar, recibiendo un baño diario con agua, cepillo y jabón, registrandose la temperatura de la mañana y de la tarde. El dia anterior a la inoculación es afeitada y lavada toda la región toraco-abdominal y llevada a un boxe con corriente de água permanente a nivel del piso.

La vacunacion se efectúa 24 horas después, sobre mesa de contención apropiada, empleando material de lavados y compresas de campo esterilizados, haciendo las escarificaciones en sentido longitudinal, de 10 a 15 cm. separadas

unas de otras por 1 cm. La pulpa es distribuida por toda la región escarificada, con guante de goma esterilizado. Terminada la operación, se cubre totalmente la ternera con una camisa esterilizada especial, que deberá cambiarse dos veces al dia. Entre tanto prosigue la evolución de la vacuna, los boxes son mantenidos a media luz y al abrigo de las moscas, para cuyo efecto el local cuenta con protección suficiente. La temperatura sigue registrandose dos veces al dia, con vigilancia constante de la higiene del local. Al tercer dia, sobre mesa de contención, la ternera es examinada a fin de comprobar la evolución de la vacuna, sometiéndose la región afectada a un lavado minucioso, pasandose finalmente sobre la misma una mano suave de glicerina esterilizada.

Recolección de la pulpa — Al quinto dia la ternera es nuevamente colocada sobre mesa de contención, ubicada en una pieza especial, lavandose la región vacunada con agua tibia esterilizada, jabon y cepillo, secandose la zona con tohallas esterilizadas. Terminada esta operación se prepara el campo, como si se tratara de una intervención quirúrgica, y se procede a la recolección de la pulpa, valiendose de una cureta de Volkmann, procurando sangrar lo menos posible. La pulpa es recogida en un frasco de vidrio de boca ancha, de color caramelo, esterilizado y tarado. Completada la operación, se aplica sobre la zona de extracción un antiséptico, remitiéndose el animal a su boxe hasta su curación.

Tratamiento de la pulpa — La pulpa es conducida inmediatamente al Laboratorio de Bacteriología, donde es pesada, agregándosele glicerina en proporción al peso, emulsionándola con una espátula. El frasco es rotulado con número de orden, fecha de inoculación, *Cow-pox* empleado, fecha de recolección, cantidad de pulpa obtenida, cantidad de glicerina adicionada, etc., llevándola finalmente a la conservadora por un espacio mínimo de seis meses. Las anotaciones a que hacemos referencia se consignan ademas en un fichero especial con detalles de los sucesivos procesos a seguir. Después de no menos de seis meses de permanencia en la conservadora, la pulpa sufre una trituración fina, encargándose el laboratorio de bacteriologia de las investigaciones bacteriológicas, tamización, verificación de la actividad y dilución final.

Desde el mes de Marzo de este año, en que volvimos a hacernos cargo del Servicio Antivariólico del Instituto de Higiene, resolvimos introducir el método de purificación por la penicilina en la rutina de preparación de la vacuna antivariólica, en base a las halagueñas experiencias recogidas.

PURIFICACION DE PULPAS GLICERINADAS Y ESTACIONADAS

Una primera partida de linfas, con numero de ordem 149, 150, 151, 152, 153 y 154, con fecha de recolección del 9 al 14 de Noviembre de 1946 todas ellas glicerinadas, con excepción de la pulpa n.º 150 que fue tratada exclusivamente por agregado de 100.000 unidades Oxford de penicilina, de acuerdo al volumen fueron trituradas y tamizadas, haciéndose los recuentos de gérmenes por

siembras en placas de agar, sobre diluciones decimales corrientes e incubación a 37° durante 24 horas, sembrandose así mismo en anaerobiosis. Previo control numérico de estos contages, agregamos a la linfa cantidades de penicilina de Eli Lilly & Co., de Indianópolis, que oscilaban entre 2000 a 3000 unidades por cc., operando sobre la pulpa total triturada y tamizada, con nuevo recuento a las 24, 48 y 72 horas, obteniendo resultados siempre constantes de una disminucion por debajo de 1000 gérmenes por cc., y en algunos casos una depuración total.

Como control de actividad empleamos los métodos de Calmette y de Gins, ensayando el producto así purificado, con dilución final a 1/5, en el propio personal del Instituto de Higiene, con resultados óptimos ya sea primovacunados o revacunados.

Cien mil dosis de estas vacunas fueron distribuidas a los servicios sanitarios y civiles, obrando en nuestros archivos informaciones estadisticas sobre sus resultados y su evolución normal, y porcentages hasta de 90% de positivos en primovacunados por el Cuerpo Médico Escolar.

PURIFICACION DE LAS PULPAS DE RECOLECCION RECIENTE

En el mes de Marzo de este año, una epidemia de Alastrin se extendio por algunas zonas del pais, coincidente con una leva de ciudadanos. El Instituto de Higiene, sin stock de pulpas estacionadas, debio resolver con urgencia el problema. Para el efecto debimos recurrir a nuestro método de purificación rápida por la penicilina.

Operamos en las mismas condiciones técnicas que las anotadas anteriormente, solamente que aquí, debimos emplear las pulpas n.os 155, 156, 157, 158 y 159, recolectadas *ocho dias antes*, con un recuento inicial de gérmenes incontable. Una vez trituradas y tamizadas, recibieron cada una de estas pulpas, 1500 a 3000 unidades Oxford de penicilina, mostrando a las 24 y 48 horas una disminución proporcional por debajo de 1000 y hasta de 500 gérmenes por cc., comportándose las pruebas de Calmette y de Gins normalmente, así como las inoculaciones de nuestras siembras en anaerobiosis.

En presencia de estos hechos, miembros del personal del Instituto de Higiene se encargaron de practicar las vacunaciones, constatándose en forma normal, los distintos procesos de incubación, aparición de las pápulas, trasformación en vesículas y constitución de las pústulas, asi como los diversos tipos de reacciones alérgicas primarias o aceleradas en los revacunados.

Ciento cincuenta mil dosis de vacunas antivariólicas preparadas y purificadas por el método de la penicilina fueron distribuidas en tubitos de vidrio de cien dosis, protegidos por papel plateado y parafinado. El Instituto de Higiene, a no contar con su propio método de depuración rapida, no hubiera podido resolver su propio problema y su responsabilidad sanitaria, y la epi-

demia de Alastrin se hubiera extendido en forma alarmante. Razón, pues, asiste a Diaz Romero, de Montevideo (Uruguay), cuando dice en su importante trabajo:

> "El empleo de la penicilina en la practica sera de apreciar en circunstancia como la ocurrida entre nosotros, en que por ocurrencia de un brote epidemico de viruela el stock de vacuna utilizable del Conservatorio se agota rápidamente y en que solo quedan disponibles linfas recientemente preparadas, no aptas para su utilización sin inconvenientes en plazos nunca menores de seis meses".

CONCLUSIONES

1. La penicilina posee evidente acción selectiva y permanente sobre la flora de contaminación de la linfa vaccínica, y muy especialmente sobre la flora grampositiva y los esporulados anaerobios saprófitos.

2. La penicilina no modifica las cualidades del virus vaccínico y su actividad.

3. Las linfas purificadas por la penicilina confieren una inmunidad normal, con reacciones generales y locales típicas, y notable disminución de los procesos anormales observados frecuentemente con el uso de linfas depuradas por otros métodos químicos.

4. La técnica de purificación de la linfa vaccínica por la penicilina, constituye un método de elección por su rapidés y por los resultados mediatos e inmediatos de su aplicacion humana.

5. En casos de urgencia, este método es de gran importancia practica para la purificación de pulpas de reciente recolección, sin estabilización proporcional, disminuyendo notablemente la contaminación microbiana en un mínimo de tiempo de 48, a 72 horas, sin que exista modificación de las cualidades del virus y de su actividad.

6. Destacamos el interés sanitario y biológico de estas conclusiones, sugiriendo a los Conservatorios de Vacuna Antivariólica, el contralor de nuestras experiencias, sujetas a estudios que serán objeto de una comunicación ulterior.

BIBLIOGRAFIA

1. Rivarola, J. B., 1944, La penicilina en la purificación de la pulpa vacunal. *Rev. Brasil. Biol.*, 4 (4) : 483-484.

2. Hobby, G. L., Meyer, K. & Chafee, E., 1942, Activity of Penicillin *in vitro*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 50 (2) : 277-280.

3. Diaz Romero, C., 1945, La penicilina en la purificación de la vacuna antivariólica. *Arch. Soc. Biol., Montevideo,* 12 (3) : 152-158.

4. Miranda, C., 1944, Purificação da vacina antivariólica pelo emprego da penicilina. *Rev. Brasil. Med.*, 1 (11) : 919.

5. Floriano de Almeida, P., 1939, *Mycologia Medica,* 750 pp., Cia. Melhoramentos, S. Paulo.

6. Gohar, M. A. & Basharli, A., 1946, The effect of Penicillin on the vaccinia virus. *J. Trop. Med. Hyg.*, 49 (6) : 115-116.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 127-141
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA BIONOMIA DE "ROTHSCHILDIA AUROTA" (CRAMER, 1775) (Lepidoptera, Saturnidae) [1]

B. L. RIBEIRO

(Com 4 figuras no texto)

Aproveitando-nos da relativa frequência do saturnídeo *Rothschildia aurota* (Cramer, 1775), na região de Campinas, Estado de São Paulo, criamos e observamos durante cerca de dois anos esta espécie. No presente trabalho, damos os resultados obtidos e que, ao nosso ver, representam contribuição útil para o conhecimento de sua bionomia. Inicialmente, conseguimos 63 ovos de *R. aurota* que haviam sido postos sôbre folhas de Mamoneira — *Ricinus communis* L. Consideramos este lote como primeira geração de laboratório, constituida por 30 lagartas, das quais 18 completaram o ciclo. Foram conseguidas duas gerações mais que constituem a fonte principal dos nossos dados.

Deixamos consignados nossos agradecimentos ao Dr. H. Sauer, Chefe da Seção de Entomologia Agrícola, pelas sugestões apresentadas, ao Dr. A. Orlando e ao Snr. R. L. Araújo, pela colaboração, todos técnicos do Instituto Biológico.

PLANTAS HOSPEDEIRAS

Observamos em natureza tanto os ovos como as lagartas desta espécie em folhas de mamoneira *(Ricinus communis)*, mamica de porca *(Fagara Chiloperone)*, cajueiro *(Anacardium occidentale)*, paineira *(Chorisia speciosa)*, amoreira *(Morus alba)* e cajazeiro *(Spondia lutea)*.

Costa Lima cita, em seu Terceiro Catálogo dos Insetos que vivem nas Plantas do Brasil, como hospedeiros: "chá ou herva de bugre, laranjeira, madresilva, sarandy, bambú, cajazeiro, cajueiro, mandioca, mamoeira, pecegueiro e arueira".

[1] Recebido para publicação a 23 de Outubro de 1947.

As experiências com hospedeiros variados (Tabela 1) foram feitas distribuindo-se 20 ovos em lotes de 5, obtidos quase todos em 24/I/942. Igual quantidade de ovos foi distribuida de modo análogo, a 13/IV/942, por novos hospedeiros.

Tabela 1

COMPORTAMENTO DO DESENVOLVIMENTO LARVAL EM RELAÇÃO AOS HOSPEDEIROS (1942)

MAMONEIRA (Ricinus Communis)

Casulo

N.º	Postura	Eclosão	1.ª Muda	2.ª Muda	3.ª Muda	4.ª Muda	Início	Fim	Prepupa	Crisálida	Adulto	Sexo
1	24-I	2-II	6-II	11-II	16-II	23-II	6-III	7-III	8-III	16-III	28-III	♀
2	24-I	2-II	6-II	11-II	16-II	23-II	11-III	12-III	13-III	20-III	17-IV	♀
3	24-I	2-II	7-II	11-II	16-II	20-II	4-III	5-III	6-III	12-III	27-IV	♂
4	24-I	2-II	7-II	12-II	16-II	22-II	5-III	7-III	8-III	16-III	11-IV	♀
5	24-I	2-II	6-II	10-II	15-II	20-II	4-III	5-III	6-III	13-III	13-IV	♂
							CAJUEIRO (Anacardium Occidentale)					
1	26-I	4-II	9-II	13-II	18-II	24- II	12-III	13-III	23-III	31-III	27-IV	♀
2	26-I	4-II	9-II	13-II	18-II	2-III	15-III	16-III	17-III	23-III	1-IV	♂
3	26-I	4-II	9-II	13-II	18-II	2-III	18-III	19-III	20-III	27-III	29-IV	♀
4	26-I	4-II	9-II	13-II	18-II	2-III	18-III	19-III	20-III	26-III	28-IV	♂
5	26-I	4-II	10-II	14-II	19-II	2-III	20-III	22-III	23-III	31-III	—	—
							MAMICA DE PORCA (Fagara Chiloperone)					
1	24-I	2-II	9-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	24-I	2-II	9-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	24-I	2-II	9-II	15-II	21-II	—	—	—	—	—	—	—
4	24-I	2-II	9-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	24-I	2-II	9-II	14-II	17-II	26-II	—	—	—	—	—	—
							AMOREIRA (Morus Alba)					
1	24-I	2-II	7-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	24-I	2-II	7-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	24-I	2-II	7-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	24-I	2-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	24-I	2-II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
							MANDIOCA (Manihot Utilissima)					
1	13-IV	24-IV	1-V	7-V	—	—	—	—	—	—	—	—
2	13-IV	24-IV	29-IV	4-V	8-V	18-V	1-V	8-VI	9-VI	17-VI	—	—
3	13-IV	24-IV	4-V	8-V	18-V	1-VI	27-VI	1-VII	1-VII	20-VII	—	—
4	13-IV	24-IV	29-IV	4-V	8-V	18-V	1-VI	5-VI	8-VI	22-VII	—	—
5	13-IV	24-IV	29-IV	4-V	13-V	1-VI	—	—	—	—	—	—

As lagartas criaram-se perfeitamente bem em mamoneira e cajueiro, constatando-se neste último, apenas um caso de não emergência do adulto, após formada a crisálida. Em mandioca, sòmente 3 larvas atingiram o estádio de crisálida, perecendo a seguir. Em mamica de porca e amoreira apenas algumas larvas iniciaram o desenvolvimento, alcançando no máximo a 4.ª muda, e em paineira, laranjeira e bambú as lagartinhas não conseguiram fazer a primeira muda.

LONGEVIDADE

Para observação da longevidade em cativeiro tomamos 36 fêmeas, fecundadas ou não, e 24 machos. Verificamos que as fêmeas apresentam o dobro da longevidade dos machos (Tabela 2).

Tabela 2

TOTAL DE EXEMPLARES	LONGEVIDADE EM DIAS																		TOTAIS		Temp. média em °C
	3	1	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	♀♀	♂♂	
1															♀				1	—	19,0
1																		♀	1	—	20,5
2											♀	♀							2	—	21,0
1																♀			1	—	21,5
10			♂	♂♂♂	♂			♀			♀	♀♀				♀			5	5	22,0
10			♂	♂♂♂					♀	♀	♀		♀					♀♀	6	4	22,5
4			♂	♂										♀		♀			2	2	23,0
4			♂				♂♀			♀									2	2	23,5
1					♂														—	1	24,0
2			♂♂																—	2	24,5
7		♂			♂♀				♀♀				♀		♀				5	2	25,0
4						♀				♀			♀	♀					4	—	26,0
10	♀			♂♂	♂	♂♂♂♀				♀			♀						4	6	26,5
3				♀				♀						♀					3	—	27,0
60	1	1	6	10	5	5	2	2	3	4	3	3	4	3	2	3	—	3	36	24	

A média foi para as fêmeas de 13,8 dias (máxima 20 — mínima 3), e para os machos de 6,2 (máxima 9 — mínima 4).

PREOVIPOSIÇÃO, OVIPOSIÇÃO

Na tabéla 3 vê-se a duração das fases de preoviposição, oviposição e o número de ovos por fêmea fecundada.

Tabela 3

PERÍODOS EM DIAS DE PREOVIPOSIÇÃO, OVIPOSIÇÃO E NÚMERO DE OVOS OBTIDOS EM LABORATÓRIO, 1942 — CAMPINAS

CASAL	Emergência	Cópula	Período		Número de Ovos				Temp. média °C.
			Preoviposição	Oviposição	Média (dia)	Máxima (diário)	Mínima (diário)	Total	
1	23-I	23-I	1	5	68,6	228	1	343	27,3
2	8-IV	9-IV	1	10	29,0	82	12	290	22,5
3	11-IV	12-IV	1	9	39,4	205	9	355	22,5
4	12-IV	15-IV	1	5	4,4	9	2	22	22,3
5	27-IV	28-IV	1	5	66,0	230	7	330	23,7
6	27-IV	28-IV	1	7	42,0	90	6	294	23,7
7	2-V	4-V	1	8	41,8	204	3	335	20,8
Total 7	—	—	7,0	49	—	—	—	1.969	—
Média	—	—	1,0	7,0	—	—	—	281,2	—

Aproveitando o elevado número de adultos obtidos na criação separamos 7 casais, nascidos no mesmo dia, e dêles conseguimos o total de 1.969 ovos (Tabela 3); cada fêmea pôs, em média, 281,2 ovos durante 7 dias. Máximo de postura, 355 ovos em 9 dias, e mínimo de 22 ovos em 5 dias.

OVO

Os ovos recem-postos são amarelados, branqueando depois de algum tempo, não transparentes; cório muito resistente; forma elipsóide. A ôlho nú, parecem lisos; ao pequeno aumento, entretanto, notam-se inúmeros pontinhos deprimidos em tôda sua superfície. Nas mangas de vidro as posturas são feitas aos grupos de 20, 30 ou mais ovos ainda.

Por ocasião da coleta de ovos em folhas de mamoneira foram encontrados 4, 5, 7 e até 8 ovos, isolados, na página superior da folha, uns bem próximos aos outros. A postura dá-se de preferência à noite, o que pode ser melhor averiguado no laboratório, apezar de se verificar que a postura pode também processar-se durante o dia.

Medida de 10 ovos, em mm.

Comprimento: Máximo 2,55 — Mínimo 2,45 — Médio 2,50
Largura: Máxima 1,87 — Mínima 1,73 — Média 1,81

Tabela 4

NÚMERO DE OVOS	PERÍODO DE INCUBAÇÃO DOS OVOS			Temp. média
	Número de Dias			
	Máxima	Média	Mínima	
20	—	13	—	20,5
10	—	11	—	21,0
—	—	—	—	21,5
—	—	—	—	22,0
10	12	10,2	9	22,5
10	—	10	—	23,0
—	—	—	—	23,5
—	—	—	—	24,0
20	10	9	7	24,5
160	11	9	8	25,0
57	10	8,7	6	25,5
Total 287	—	—	—	—

De Janeiro a Maio de 1942, observamos o período de incubação em dias, de 287 ovos, obtidos no laboratório. Grupamo-los na tabela 4, em lotes de número variável, de acôrdo com a postura de 7 fêmeas, tomadas ao acaso levando em conta a temperatura.

DESCRIÇÃO DOS ESTÁDIOS LARVAIS

1.º *Estádio* — Ao saírem do ovo, as cerdas das lagartinhas são abaixadas e um tanto humedecidas. Sua primeira refeição dá-se em regra 18 horas depois da eclosão. Têm os movimentos vagarosos, começam a escurecer depois de iniciada a alimentação.

Corpo cinza escuro, com as junções abdominais amarelo-pálidas. Com a alimentação o corpo torna-se esverdeado, os segmentos com verrugas amareladas (canário), com cerdas róseo-escuras. Pronoto com uma linha em sua região posterior, mais escura do que as junções abdominais. Comprimento variável entre 5 e 6 mm. As lagartinhas mostram-se gregárias no laboratório.

Cabeça mais larga do que comprida, lisa, brilhante, cinza escura, inclusive a sutura epicrânica; vértice amarelado; cerdas de tamanho médio, escuras. Océlos castanho-claros, assim como as peças bucais. As lagartas, alimentam-se desde o início, indistintamente de tôda a folha, começando pela periferia.

2.º *Estádio* — Corpo semelhante ao do primeiro estádio, com caracteres mais definidos, junções abdominais pretas. Placa anal preto-brilhante. Estigmas pretos. Verrugas e regiões circunvizinhas amareladas. Cerdas com coloração semelhante. Região ventral esverdeada. Patas torácicas pretas. Placa protorácica de coloração verde, possuindo em sua extremidade posterior uma faixa negra e luzidia.

Cabeça preta, lisa e brilhante, com algumas cerdas escuras. Notam-se também três manchas amarelo-pálidas; ocelos escuros; sutura epicrânica levemente mais clara do que a cabeça; peças bucais mais escuras. Comprimento: Máxi-

mo, 18 mm., mínimo, 12 mm., e médio 14 mm. Hábitos semelhantes ao do estádio precedente ; nota-se, entretanto, maior dispersão e voracidade. Ao serem molestadas, as lagartas dirigem a cabeça para cima, soltando uma pequena quantidade de líquido.

3.º *Estádio* — Corpo, em seu todo, verde acinzentado ; placa protorácica amarelada e luzidia ; margem posterior com uma faixa preta brilhante, podendo-se apresentar bipartida. Em algumas lagartas a côr preta das junções persiste, se bem que com forma de um traço negro transversal. Em outras, esses traços aparecem unicamente nos últimos segmentos abdominais.

Verrugas — seis em todos os segmentos com exceção do 8.º com 5, do 9.º com 4 e do 10.º com 2 ; a base das verrugas tem côr amarelada esmaecida, com a extremidade livre rósea e cerca de 7 a 8 cerdas. Estigmas pretos e bem visíveis. Região ventral verde-acinzentado escuro, com uma pilosidade delicada cinza claro. Patas torácicas pretas ; falsas pernas alaranjadas, com uma placa negra. O décimo segmento exibe um desenho em fórma de U.

Cabeça preta luzídia e lisa, com cerdas mais claras, as três manchas características mais alongadas e de côr verde amarelado em regra geral.

Em alguns indivíduos as duas manchas laterais são mais longas, alcançam a região occipital, onde podem bifurcar-se, ou continuarem indivisas até a região basal cefálica. Antena e armadura bucal pretas, océlos mais escuros, parte basal do labro rósea, com algumas cerdas.

Sutura epicrânica mais escura do que no estádio precedente.

4.º *Estádio* — Corpo em geral verde-amarelado, com as regiões inter-segmentares de côr esverdeada. Placa protorácica inteiramente verde-claro e um tanto luzidia ; disposição das verrugas idênticas à do estádio precedente, sendo menores as infra-espiraculares ; teem a base verde-amarelada e a extremidade cereja, com 7 a 9 cerdas. Estigmas côr de fogo, sem brilho. Desaparecem por completo os traços negros que muitas delas apresentavam antes. Permanece o desenho em fórma de U situado no último segmento. Surge também um U bem fechado nas falsas pernas.

Região ventral verde-claro, provida de pêlos flexíveis acinzentados, mais abundantes nos 1.º, 2.º, 3.º, 8.º e 9.º segmentos abdominais. Patas torácicas verde-amareladas e com extremidade apical preta ; falsas pernas verde-amareladas, com alguns pontos pretos e cerdas claras. Comprimento do corpo : de 3 a 5 cm.

Cabeça verde amarelada, brilhante e lisa. Ao maior aumento nota-se de cada lado do tronco da sutura, um grupo de pontos mais claros. Poucas cerdas de côr cinza ; sutura epicrânica preta ; na região dos océlos nota-se uma expansão da côr escura da sutura. Peças bucais e antenas escuras. Algumas lagartas apresentam duas manchas irregulares escuras de tamanho variavel, situadas na região das genas. Região basal do labro idêntica à do estádio posterior.

5.º *Estádio* — Os indivíduos apresentam cerdas urticantes, relativamente ineficazes, mas que chegam a provocar irritação.

Fig. 1 — *Rothschildia aurota* (Cramer, 1775), lagarta na última fase.

Corpo verde, junções segmentares um pouco mais claras. Placa protorácica verde amarelada, brilhante, rugosa, exibindo em sua margem cefálica, 4 pequenas protuberâncias de côr mais clara. O número normal de verrugas é de seis, com exceção do 8.º e 9.º segmentos, que possuem 5 e 4 respectivamente. As infra-espiraculares teem desenvolvimento pequeno. A base das verrugas é verde, com a extremidade livre vermelho-tijolo; cerdas escuras; espiráculos alaranjados. No último segmento abdominal o desenho, bem conspícuo, tem forma de V. Região externa das falsas pernas (anais) com uma figura preta em formato de V, com a extremidade oposta. Os bordos do 8.º e 9.º segmentos, tomados por uma saliência amarelo-esverdeada. Comprimento do corpo, 10,5 a 12 cm.

CASULO

A lagarta paralisa tôda sua atividade ao iniciar a construção do casulo após o que excreta um líquido viscoso e de côr bronzeada. Antes de iniciar o casulo, produz ela com a cabeça movimentos semelhantes aos da fiação pròpriamente dita, sem entretanto largar substância alguma.

No início o fio é muito fino, e costuma não ser aproveitado. E' apenas espalhado pela região na qual se localizará o casulo. Com o decorrer de sua atividade, o fio torna-se mais espêsso e resistente.

Calculamos, em laboratório, que a lagarta gasta aproximadamente de 1.600 a 2.000 m. contínuos de fio no encasulamento, o que leva de 1 a 5 dias con-

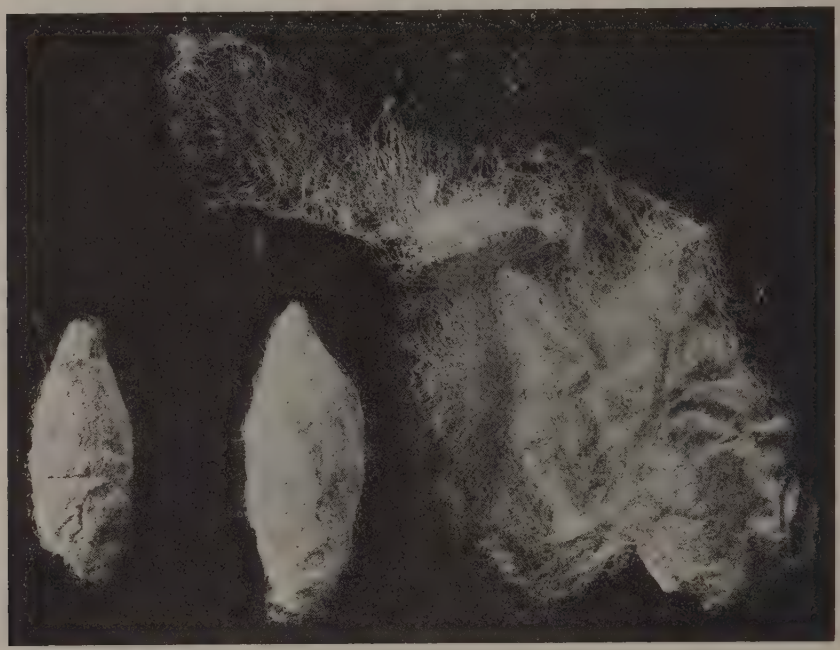


Fig. 2 — *Rothschildia aurota* (Cramer, 1775), casulos.

forme a temperatura (tabelas 1, 2 e 3). Na natureza foram encontrados casulos bem distantes das plantas hospedeiras, em lugares abrigados, e nas mais diversas posições. Quando eles são pendentes o orifício de saída fica voltado para cima. Apesar de, em laboratório, estimularmos a construção de casulo pendente, só os conseguimos aderidos ao vidro das mangas.

Observamos que os casulos são construidos por camadas, em número de 3 a 5, sendo a câmara interna muito bem tecida, espêssa e de superfície lisa, enquanto que as demais, principalmente a primeira, são ásperas e pouco ligadas.

O casulo apresenta forma muito variável e côr variando do amarelo bem claro (palha) ao escuro.

Medida de 13 casulos em cm.

Comprimento :	Máximo 8,5 — Mínimo 6,0 — Médio 7,31
Largura :	Máxima 3,3 — Mínima 2,0 — Média 2,54

PUPA

A pupa, de forma ovóide quando recem-transformada, é de côr de palha, tornando-se paulatinamente castanho escura, e face ventral mais clara. Há

uma linha longitudinal pouco elevada, que sai da região posterior cefálica até o mesotórax. Partes cefálicas bem visíveis, asas anteriores muito nítidas, permi-

Fig. 3 — *Rothschildia aurota* (Cramer, 1775), pupas.

tindo delinear-se as nervuras, segmentos abdominais moveis. Estigmas grandes bem visíveis, anelados de preto, iris mais escura ; cremaster com número elevado de colchetes.

Medidas de 10 crisálidas em cm.

Comprimento :	Máximo 4,5 — Mínimo 3,5 — Médio 3,8
Largura :	Máxima 1,8 — Mínima 1,5 — Média 1,6

DESCRIÇÃO DO ADULTO

(Segundo B. Raimuido, 1920, Almanaque Agrícola Brasileiro, IX : 252)

"Mede 0,150 e 0,160 de envergadura. As quatro asas, ora são de um bruno arruivado, ora de um bruno anegrado, cortadas por uma larga faixa comum, discoidal, rosada, muito irregular exteriormente, é atravessada pelo meio, por uma outra estreita, negra, com muitos átomos brancos.

Essa faixa é limitada para dentro por duas outras faixas, uma branca e outra negra, sendo esta muito sinuosa. O meio da superfície de cada asa é marcado por uma grande mancha discoidal vítrea, trianguliforme, característica de quase tôdas as sps. do gênero, guarnecida exteriormente de negro, principalmente na base, sendo que um vértice, apenas toca a faixa branca. A região basal é guarnecida por uma faixa curva, branca, orlada de negro por fora ;

a das asas anteriores toca a mancha vítrea, ficando as das posteriores bastante afastada.

Fig. 4 — *Rothschildia aurota* (Cramer, 1775), macho.

As asas anteriores têm além disso, uma bela e grande mancha ápical, rósea, seguida para fora de duas pequeninas manchas negras guarnecidas de claro. A borda terminal das quatro asas é de um amarelo ocre brunáceo, com uma linha ondulosa, irregular, bruna. Nas anteriores é simples, começando no ápice e terminando no ângulo interno e, nas posteriores, é seguida de uma outra de um amarelo por vezes um tanto alaranjado, sendo acompanhada de uma série de pequenas manchas brunas, circuladas de claro, em número de 14 ou 15.

A face inferior das quatro asas, é semelhante à superior, porém mais pálida e sem faixa basal, branca.

A fêmea, é semelhante ao macho, quase sempre um pouco mais clara, com as asas anteriores, menos lançadas, a mancha vítrea das posteriores, maior e ovalar, as antenas menores e o abdomen bastante desenvolvido".

DURAÇÃO DO CICLO EVOLUTIVO

Na tabela 5 pode-se observar a duração das fases do ciclo evolutivo de 18 indivíduos, oriundos de lagartas da 1.ª geração de laboratório, nascidas no dia 5 de Novembro de 1941, em Campinas, S. Paulo.

Tabela 5

DURAÇÃO EM DIAS DO DESENVOLVIMENTO DE 18 LARVAS

Temperaturas médias °C, correspondentes aos períodos larvais, pré-pupais, pupais e de larva a adulto.

NÚMERO DO INDIVÍDUO	ESTÁDIOS LARVAIS								PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto	Sexo	PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º				Larval	Pré-pupal	Pupal			Larval	Pré-pupal	Pupal	
					Desenv.	Fiação	Descanso	Total									
1	5	4	4	6	13	1	—	14	33	7	64	104	♀	22,8	25,2	24,6	24,5
2	5	4	6	7	8	2	1	11	33	8	69	110	♀	22,8	25,1	25,0	24,9
3	5	2	5	8	9	2	1	12	32	6	51	89	♀	23,1	25,3	24,0	23,5
4	5	4	6	6	14	1	2	17	38	5	47	90	♂	22,6	24,2	24,3	23,5
5	5	4	6	7	14	2	—	16	38	6	35	79	♂	22,7	23,9	25,8	23,6
6	5	4	7	5	9	1	1	11	32	6	45	83	♂	23,5	24,9	25,7	24,6
7	5	5	4	7	9	1	1	11	32	6	57	95	♀	23,5	24,9	25,7	24,5
8	6	3	7	6	8	1	1	10	32	8	39	79	♀	23,6	24,2	25,2	24,5
9	5	4	3	8	9	1	2	12	32	5	26	63	♂	22,9	24,8	24,4	23,6
10	6	4	5	6	10	1	1	12	33	6	26	65	♂	22,7	25,4	24,7	23,8
11	6	4	6	6	11	1	2	14	36	6	38	80	♂	22,9	24,7	25,5	24,2
12	4	5	6	6	8	2	1	11	32	6	28	66	♀	23,5	24,9	24,9	24,3
13	5	5	6	7	7	2	1	10	33	7	43	83	♀	23,6	25,3	25,1	24,4
14	4	5	6	6	8	2	1	11	32	7	60	99	♀	23,6	25,3	24,8	24,5
15	4	5	6	6	7	2	1	10	31	8	41	80	♀	22,7	25,1	24,9	23,7
16	6	7	3	8	11	1	2	14	38	6	72	116	♀	22,6	23,8	24,5	23,3
17	6	7	4	5	12	4	1	17	39	2	65	106	♂	22,7	24,2	25,3	23,1
18	6	7	3	6	8	1	1	10	32	7	34	73	♂	23,2	25,3	24,5	24,2
MÉDIA	5,1	4,6	5,1	6,4	9,7	1,5	1,1	12,3	33,7	6,2	46,6	86,6		23,0	24,8	24,9	24,0
MÁXIMA	6	7	7	8	14	4	2	17	39	8	72	116		23,6	25,4	25,8	24,9
MÍNIMA	4	2	3	5	7	1	–	10	31	2	26	63		22,6	23,8	24,0	23,1

Tabela 6

DURAÇÃO EM DIAS DO DESENVOLVIMENTO DE 51 LARVAS

Temperaturas médias °C, correspondentes aos períodos larvais, pré-pupais, pupais e de larva a adultos.

NÚMERO DO INDIVÍDUO	ESTÁDIOS LARVAIS								PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto	Sexo	PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º				Larval	Pré-pupal	Pupal			Larval	Pré-pupal	Pupal	
					Desenv.	Fiação	Descanso	Total									
1	5	4	5	5	10	1	1	12	31	8	95	134	♂	25,1	23,9	23,1	24,8
2	6	5	5	8	12	1	1	14	38	8	305	351	♂	25,0	25,3	23,5	24,6
3	5	4	4	6	10	1	2	13	32	6	83	121	♂	25,2	23,9	21,4	24,4
4	5	5	5	5	11	1	2	14	34	6	22	62	♂	25,3	23,9	24,1	24,9
5	5	4	5	6	11	2	1	14	34	7	52	93	♀	25,3	24,1	22,4	24,5
6	5	3	5	5	10	1	3	14	32	7	26	65	♀	25,3	23,9	24,7	24,9
7	7	6	5	7	14	1	1	16	41	7	304	352	♂	25,2	25,4	23,5	24,8
8	4	4	4	5	9	1	2	12	29	13	64	106	♂	25,4	24,1	23,1	25,7
9	5	3	6	7	11	1	2	14	35	14	76	125	♂	25,3	24,9	22,4	24,7
10	6	4	5	5	17	2	—	19	39	8	39	86	♀	24,8	25,3	24,3	24,6
11	5	4	4	5	10	1	1	12	30	7	34	71	♂	25,7	23,9	23,9	25,6
12	5	4	4	4	11	1	1	13	30	7	55	92	♂	25,9	23,9	23,2	24,6
13	6	5	4	6	10	2	1	13	34	7	43	84	♂	24,5	24,1	24,1	24,3
14	6	5	5	6	10	1	1	12	34	6	25	65	♀	25,3	23,9	24,2	24,6
15	6	6	4	6	11	1	1	13	35	7	29	71	♀	25,3	24,7	24,1	24,7
16	4	6	4	4	10	1	1	12	30	7	32	69	♂	25,1	24,6	23,9	24,9
17	6	4	4	5	11	1	1	13	32	—	50	82	♀	24,9	24,7	23,8	24,5
18	5	3	5	5	10	1	1	12	30	7	48	85	♀	25,3	24,6	23,9	25,1
19	5	4	5	4	13	1	1	15	33	6	29	68	♂	25,2	23,8	23,2	24,7
20	4	5	4	5	11	2	—	13	31	7	54	92	♂	25,3	23,9	23,7	24,8
21	5	5	4	6	11	1	1	13	33	6	24	63	♂	25,4	23,8	24,3	24,8
22	5	4	4	5	10	1	2	13	31	6	45	82	♂	25,3	24,5	23,8	24,9
23	5	4	5	5	13	1	2	15	34	8	41	83	♀	25,5	24,5	24,1	24,8
24	6	4	4	6	11	2	1	14	34	6	34	74	♀	24,9	23,9	24,2	24,5
25	4	4	5	6	7	1	1	9	28	6	26	60	♂	25,2	24,3	23,6	24,6
26	5	4	6	5	10	1	1	12	32	6	23	61	♂	25,4	23,9	24,9	24,9
27	5	4	6	5	10	1	1	12	31	7	44	82	♂	25,3	23,9	24,2	24,8

(Continuação)

NÚMERO DO INDIVÍDUO	ESTÁDIOS LARVAIS								PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto	Sexo	PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º				Larval	Pré-pupal	Pupal			Larval	Pré-pupal	Pupal	
					Desenv.	Fiação	Descanso	Total									
28	5	4	4	5	12	2	1	15	33	7	20	60	♀	25,3	23,9	23,9	24,5
29	5	4	4	6	11	2	1	14	33	8	28	69	♀	25,2	24,1	24,1	24,7
30	5	4	5	6	11	1	1	13	33	9	30	72	♀	25,3	24,5	24,2	24,8
31	5	4	5	9	11	1	2	14	37	8	29	74	♀	25,4	24,8	24,0	24,9
32	5	4	4	5	11	1	1	13	31	7	48	86	♂	25,3	23,9	24,1	24,7
33	5	4	5	6	11	1	1	13	33	13	305	351	♂	25,4	24,4	23,5	24,7
34	5	4	4	5	10	1	2	13	31	9	62	102	♂	25,3	24,5	23,8	24,9
35	5	4	4	6	11	1	1	13	32	7	25	64	♀	25,3	23,9	24,2	25,5
36	5	4	5	4	10	2	1	13	31	7	33	71	♀	25,2	23,9	24,0	24,7
37	5	4	5	5	10	1	1	12	31	8	31	70	♂	25,3	23,9	23,1	24,7
38	5	5	4	4	13	1	1	15	33	7	39	79	♀	25,1	23,9	23,4	24,6
39	5	4	5	6	11	1	1	13	33	7	24	67	♀	25,4	23,9	24,1	24,4
40	5	4	4	5	11	1	1	13	32	7	27	66	♀	25,3	23,9	24,1	24,7
41	4	4	4	5	11	1	1	13	30	7	53	90	♂	25,3	23,9	23,8	24,5
42	5	3	4	5	11	1	1	13	30	7	28	65	♂	25,3	23,9	24,5	24,7
43	5	4	4	6	11	1	1	13	32	7	29	68	♀	25,2	23,9	23,2	24,6
44	6	5	5	7	13	2	—	15	38	8	29	75	♀	24,9	25,3	24,0	24,6
45	4	5	4	5	10	1	1	12	30	4	21	55	♂	25,3	23,9	25,6	25,3
46	6	4	4	9	13	1	2	16	39	6	38	83	♀	24,8	25,1	24,1	24,6
47	4	5	5	7	11	1	1	13	34	8	43	85	♀	25,3	24,5	24,1	24,8
48	4	5	5	7	16	1	1	18	39	7	28	74	♀	25,2	25,2	24,1	24,7
49	5	4	5	4	12	1	1	14	32	6	46	84	♂	25,1	23,9	24,1	24,6
50	5	5	4	4	12	1	1	14	32	8	26	66	♀	25,3	24,5	24,1	24,8
51	4	4	5	5	11	2	1	14	32	7	31	70	♂	25,1	23,9	22,7	24,4
MÉDIA	5,0	4,2	4,5	5,5	11,0	1,1	1,1	13,4	33,0	7,2	54,4	94,6		25,2	24,2	23,8	24,7
MÁXIMA	7	6	6	9	17	2	3	19	39	14	305	352		25,9	25,4	25,6	25,7
MÍNIMA	4	3	4	4	7	1	—	9	28	4	20	56		24,8	23,8	21,4	24,2

Tabela 7

DURAÇÃO EM DIAS DO DESENVOLVIMENTO DE 7 LARVAS

Temperaturas médias °C, correspondentes aos períodos larvais, pré-pupais, pupais e de larva a adulto.

NÚMERO DO INDIVÍDUO	ESTÁDIOS LARVAIS								PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto	Sexo	PERÍODOS			Larva récem-nascida a adulto
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º				Larval	Pré-pupal	Pupal			Larval	Pré-pupal	Pupal	
					Desenv.	Fiação	Descanso	Total									
1	8	4	7	10	15	3	3	21	50	13	205	268	♀	20,9	17,5	21,4	20,4
2	8	4	7	10	21	2	1	24	53	16	200	269	♀	21,2	17,2	21,3	20,5
3	6	5	8	10	16	5	—	21	50	13	205	268	♂	21,3	17,5	21,4	20,6
4	6	4	6	7	15	5	—	20	43	12	231	286	♀	21,6	18,9	20,8	21,6
5	6	4	6	7	15	5	—	20	43	11	207	261	♂	21,6	19,5	20,6	21,6
6	6	4	6	7	15	5	—	20	43	11	207	261	♀	21,6	19,5	20,6	22,3
6	5	4	7	7	17	3	1	21	44	11	205	260	♂	21,8	18,7	22,0	21,1
MÉDIA	6,4	4,1	6,7	8,2	16,2	4,0	0,7	21,0	46,5	12,4	208,5	267,5		21,4	18,4	21,1	21,1
MÁXIMA	8	5	8	10	21	5	3	24	53	16	231	286		21,8	19,5	22,0	22,3
MÍNIMA	5	4	6	7	15	2	—	20	43	11	200	260		20,9	17,2	20,6	20,4

Na tabela 6 apresenta-se a duração de tôdas as fases do ciclo evolutivo de larva à adulto, da 2.ª geração de laboratório, nascidas no dia 2 de Fevereiro de 1942, em Campinas, S. Paulo.

A tabela 7 mostra a duração de tôdas as fases do ciclo evolutivo, de larva à adulto, da 3.ª geração de laboratório, nascidas no dia 26 de Abril de 1942, em Campinas, S. Paulo.

O estudo das tabelas 5 a 7 sumaria de acôrdo com as três gerações estudadas, as seguintes durações do ciclo evolutivo da *R. aurota*.

1.ª Geração :

Eclosão : 5 de Novembro de 1941.

Período larval: 33,7 dias em média; 39 dias máximo; 31 dias mínimo.
" *Prepupal:* 6,2 dias em média; 8 dias máximo; 2 dias mínimo.
" *Pupal:* 46,6 dias em média; 72 dias máximo; 26 dias mínimo.
De larva a adulto: 86,6 dias em média; 116 dias máximo; 63 dias mínimo.

2.ª Geração :

Eclosão : 2 de Fevereiro de 1942.

Período larval: 33,0 dias em média; 39 dias máximo; 28 dias mínimo.
" *Prepupal:* 7,2 dias em média; 14 dias máximo; 4 dias mínimo.
" *Pupal:* 54,4 dias em média; 305 dias máximo; 20 dias mínimo.
De larva a adulto: 94,6 dias em média; 352 dias máximo; 56 dias mínimo.

Nesta geração, notamos três indivíduos (ns. 2, 7 e 33, da tabela n.º 6), cujos períodos de crisalidas duraram respectivamente 305, 304 e 305 dias, daí a média 54,4 dias.

Se eliminarmos esses três indivíduos, de fase pupal aberrante, em comparação aos outros 48 restantes, teremos a média 38,7 dias para essa fase, e 78,5 dias em média de larva recem-nascida até adulto. Os adultos destas três crisalidas apareceram juntamente com os adultos da 3.ª geração.

3.ª Geração :

Eclosão : 26 de Abril de 1942.

Período larval: 46,5 dias em média; 53 dias máximo; 43 dias mínimo.
" *Prepupal:* 12,4 dias em média; 16 dias máximo; 11 dias mínimo.
" *Pupal:* 208,5 dias em média; 231 dias máximo; 200 dias mínimo.
De larva a adulto: 267,5 dias em média; 286 dias máximo; 260 dias mínimo.

Nesta geração, que decorreu justamente nos meses mais frios do ano, temos sòmente a assinalar o aumento da duração média, de tôdas as fases, do ciclo evolutivo.

PROPORÇÃO DOS SEXOS

Do total de adultos criados, sòmente 76 aparecem nas tabelas de 5 a 7 : 39 outros foram também obtidos perfazendo um total de 115 indivíduos. Destes, 59 eram machos e 56 fêmeas, o que dá uma proporção de 51,3% para os machos e 48,7% para as fêmeas.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 143-155
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

ON TWO NEW GENERA OF "SCHIZOPTERINAE" ("CRYPTOSTEMMATIDAE") FROM THE NEOTROPICAL REGION (Hemiptera) [1]

PETR WYGODZINSKY
Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, Rio de Janeiro, D.F.

(With 54 text-figures)

In spite of the recent revision of the American *Cryptostemmatidae* (McAtee & Malloch, 1925) our knowledge of the family is still quite incomplete. The morphology of the various regions has not yet been studied properly ; comparisons between related genera and species are thus exceedingly difficult. Furthermore, the *Cryptostemmatinae* and *Schizopterinae* are known to be polymorphic, that is, there exist in one and same species two (or, as unpublished observations seem to indicate, even several) forms, as to the development of hemelytra and correlated modifications of thorax and head. In most cases, only the females are brachypterous, though we know species where both sexes are completely beetle-like. It is possible that many of the highly brachypterous genera of the *Schizopterinae* are nothing but *morpha* of normally winged forms. In most cases it will prove very difficult to show the exact relationship between macropterous and brachypterous forms, especially so as obviously the brachypterous forms of quite different macropterous genera will tend to become rather similar. It will be necessary to find additional generic characters that can be examined in macropterous and brachypterous specimens alike ; many of the commonly used characters are either unreliable or only to be applied to one of the *morpha*. We believe that such characters as the shape of the metapleura, thoracical sternites, morphology of the praetarsus

[1] Received for publication October 18, 1947.

and its appendages, abdominal sternites, male and female genitalia and the chaetotaxy of body and legs will prove to be of great value for the generic classification of the *Schizopterinae,* and permit later the correct assignment of the various *morpha.*

Owing to the small size of these bugs the study of their genital characters is difficult. On the other hand, it is necessary to dissect the genitalia in order to understand the relationship of the different parts. In a recent paper (WYGODZINSKY, 1947 b) we have advanced an interpretation of the segmental appendages of the abdomen of the male of the cryptostemmatine *Trichotonannus setulosus* Reuter. It does not seem warranted to carry out a direct comparison with the schizopterine genera examined so far. In both of the new genera described as well as in *Biturunannus,* described a short time ago (WYGODZINSKY, 1947 a) the genitalia of the male are highly asymmetrical. The aedeagus, which varies in size, is asymmetrical and of a highly complex structure (figs. 21, 22, 28 and 51). Its chief body is of irregular shape, and has various short processes, probably to be considered as conjunctiva appendages, one or more being strongly chitinized, and the shape of which varies greatly from one genus to the other. The phallosoma ends in a coiled vesica, which may be very long or rather stout. The basal plates are distinct, somewhat chitinized and in the shape of a transverse band ; their ends are in touch with the two asymetrical claspers, the size of which does not seem to surpass that of the phallosoma. From the opening of the genital capsule (9th segment) arises also the anal cone (A in our figs.), from between the base of a large mobile laterally directed appendage. This appendage is strongly chitinized, and furnishes excellent specific characters. We are unable to say anything definite on the origin of this appendage ; the fact that its base surrounds the base of the anal cone, and the obviously double nature of this appendage in *Biturunannus* (fig. 29) is highly suggestive of the small sclerites belonging to the 10th segment that are to be found at the base of the anal cone in other *Heteroptera.* In *Biturunannus* and one of the genera described below *(Chinannus)* we find another asymmetrical mobile appendage at the base of the 9th segment. We do not feel in a position to advance a theory on the value of this appendage; we especially want to let it clear that we do not feel justified to carry out any direct comparisons with any of the similar

sclerites found in *Trichotonannus*, which belongs to another subfamily. The large transversal dorsal sclerites found at the base of the ninth segment apparently are the parasternites of the eighth segment. This is certainly the case in *Biturunannus* and *Itagunannus* where they are simple and bear spiracles; in *Chinannus*, no spiracles can be found, and the shape of these sclerites is somewhat aberrant (fig. 20); furthermore a third transversal sclerite is visible. No other sclerites are to be found at the dorsal abdominal surface of the males the schizopterine genera examined, though they are fairly obvious in the *Cryptostemmatinae*.

In a recent paper, China (1946) describes and figures several very interesting bugs of the family *Cryptostemmatidae* from Trinidad, B.W.I. A beetle-like brachypterous female is described as *Ptenidiophyes trinitatis* n. sp., macropterous males with several very peculiar characters are described under the same genus and species, though certain doubts on their real association are expressed.

After examining carefully the available data on *Ptenidiophyes mirabilis* Reuter, hitherto the only known species of the genus, we have come to the conclusion that the female described by China as *Ptenidiophyes trinitatis* is not congeneric with *mirabilis*. We therefore have proceeded to describe a new genus for the reception of China's species. A second species from Costa Rica, apparently congeneric, is also described. We have chosen the latter as genotype as we have been able to examine it ourselves in detail. At the same time we describe a second new genus, apparently related, based upon the winged male of a species from southeastern Brazil The winged males of both genera possess a flap-like thickening at the base of the membrane, and a very peculiar pouch at the base of the right-hand side of the abdomen.

Chinannus n. g.

Winged male. No conspicuous sculpture elements present; hairs short, inconspicuous; general body form oval.

Head small, strongly inclined; clypeus not salient. Eyes small. Rostrum slender, elongate, attaining the anterior third of the abdomen; first joint stout, second very elongate, third slender, however short. Antennae much shorter than body.

Pronotal collar distinct. Propleura swollen anteriorly, extended below before eye. Meso- and metapleura simple, without projections. Meso- and metasternum each with 1+1 small submedian posterior spinelike processes that are convergent apically; metasternum posteriorly with a distinct lamellate apically truncate horizontal process. Scutellum small.

Legs short, slender; anterior and median tibiae very slightly curved, posterior tibia straight. Tarsal formula 3-?-2. All joints of legs with the usual bristles in moderate number; spine-like bristles apically on all tibiae, as well as 2-3 subapical ones on hind tibia. Praetarsus simple; claws moderately curved, without any basal processes or appendages.

Venation of hemelytra complete. First and second costal cells about equal in area, but the separating vein very oblique so that the first cell is very much longer along costal margin than is the second; the latter apparently subdivided apically by an obliquely transverse vein; the vein bounding its distal margin joining costa obliquely. This latter vein, which limits the corium, transformed partly into an elongate strongly thickened area. The usual two lateral membranal cells present, rather small. The usual free vein of the membrane joining posteriorly the inner lateral membranal cell; the large cell thus formed with the thickened distal cell of the corium subdivided by a transverse vein.

Abdomen with apparently 5 visible sternites, i.e. III, IV, V, VI and VII. Sternites with extremely numerous microchaetae (pubescence) and numerous irregularly arranged macrochaetae of moderate length. Parasternites IV, V, VI and VII of the right-hand side distinct; parasternite IV very large, with a forwardly directed spine-like projection, which is hollowed inside and forms a pouch with the somewhat prolonged lateral region of sternite III. Spiracles not discernible. Transversal sclerites which may represent the dorsally situated parasternites of the last segments at base of genital segment, however not very dictinct and without spiracles. 9th segment very small, completely hidden by the large 7th sternite. Vesica of aedeagus very long and delicate, coiled; the two claspers small, asymmetrical, not very conspicuous. Genital segment with another simple appendage, from the base of which arises the anal cone, and (at least in the type species) a further very large and elongate appendage at the base of the 9th segment.

Brachypterous female. Habitus beetle-like. Characters of eyes, rostrum, thorax, legs and chaetotaxy of abdominal sternites as in male. Tarsal formula 2-2-2. Hemelytra entirely coriaceous, highly convex, with numerous minute punctures, only visible with high augmentation. Venation obsolete, only claval fork distinct. Costal margin not explanate; metapleura and sides of abdomen distinctly visible at lateral view, not hidden by hemelytra. Hemelytra slightly overlapping; their apex emarginate, with the outer angle angulate, tip of abdomen exposed when seen from behind. Hind wings absent.

5 abdominal sternites visible, probably to be considered as I+II+III fused, IV, V, VI and VII+VIII fused. Gonapophyses absent, last segment entire.

Genital opening a transverse slit, between last sternite and last tergite. 4 abdominal tergites visible; anal cone in center of last tergite. Parasternites absent; no spiracles discernible.

Genotype: *Chinannus bierigi* n.sp.

The male of the new genus is very distinctive; the unique features of the venation of its hemelytra and the curious organ at the right-hand side of the abdomen will readily distinguish it from any other genus described up to now. The brachypterous female comes apparently near to *Ptenidiophyes mirabilis* Reuter. It differs by its very long rostrum ("rostrum brevissimum" in *Ptenidiophyes mirabilis)* and its hemelytra which are cleft apically and have the costal margin not distinctly explanate ("margine laterali toto aequaliter anguste explanato" in *Ptenidiophyes mirabilis).* We feel sure that upon examination of authentical *Ptenidiophyes* additional differential characters will be discovered.

Ptenidiophyes trinitatis China, 1946, belongs also to the present genus.

This genus is respectfully dedicated to Dr. W.E.China, of the British Museum.

Chinannus bierigi n. sp.

(Figs. 1-27, 30-31)

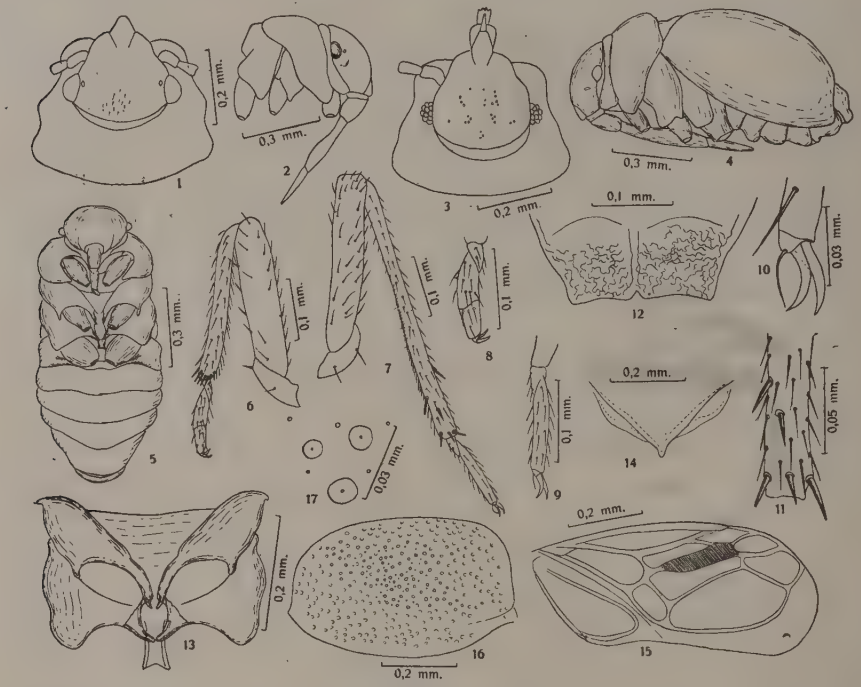
Winged male — Length (as seen from above) 1.1 mm.; maximum width 0.6 mm.

General shape (fig. 30) subrectangular, broadly rounded anteriorly and posteriorly. General color dark piceous; legs, 1st and 2nd joint of antennae and rostrum yellowish. Scutellum, base and apical two thirds of hemelytra dark piceous, the apical half of the clavus and base of corium adjoining clavus yellowish so that there is formed a large yellowish transversal fascia across the closed hemelytra. Membrane becoming somewhat less dark towards its apex; veins in dark parts of hemelytra deep black. Pilosity short and sparse.

Head (figs. 1-2) subtriangular; its bristles sparse and short, much shorter than first joint of antennae. Clypeus not salient, with a few simple bristles only. Eyes small, rounded, the distance between them 5 times their diameter as seen from above. Ocelli distinct. Rostrum laterally compressed, elongate, attaining base of 3rd visible abdominal segment; first joint rather stout, second elongate, slightly swollen on distal half; third short and slender; relative length of joints = 1 : 2.4 : 1.6.

Pronotum (figs. 1-2, 30) simple, distinctly widened posteriorly, posterior border slightly rounded. Bristles sparse and very short, similar to those on head. Meso- and metapleura simple, rounded posteriorly (fig. 2). Scutellum as in fig. 14, slightly produced apically, its disk with 1 +1 very slight basal excavations. Metanotum as in fig. 12, with very numerous irregular wrinkles.

Legs as in generic description ; details in figs. 6-11.

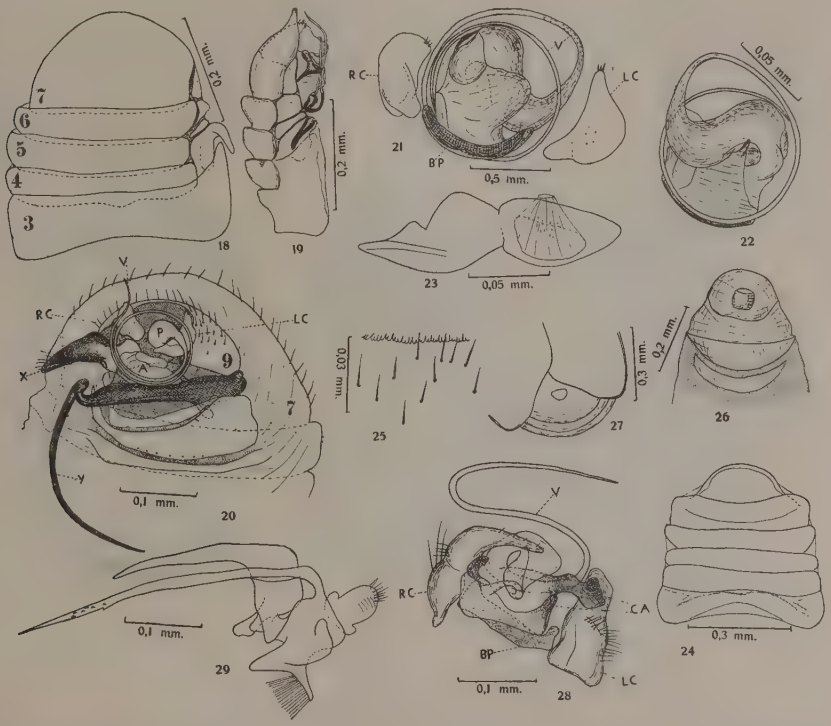


Chinannus bierigi n. g., n. sp. — Fig. 1 : Male, head and pronotum, as seen in slide preparation ; fig. 2 : male, head and thorax, lateral aspect ; fig. 3 : female, head and pronotum, as seen in slide preparation ; fig. 4 : female, lateral aspect ; fig. 5 : female, ventral aspect ; fig. 6 : male, leg of first pair ; fig. 7 : male, leg of third pair ; fig. 8 : male, anterior tarsus ; fig. 9 : male, posterior tarsus ; fig. 10 : praetarsus with claws ; fig. 11 : male, apex of hind tibiae ; fig. 12 : male, metanotum ; fig. 13 : male, meso- and metasternum ; fig. 14 : male, scutellum ; fig. 15 : hemelytron of male ; fig. 16 : hemelytron of female ; fig. 17 : punctures of hemelytron of female. Wygodzinsky del.

Hemelytra as in generic description, the thickened distal vein of corium obviously not incorporating two, but only one vein, without any pegs or specialized bristles at bottom of crevice formed by it. Shape of cells as in fig. 15 ; veins with 1-2 irregular rows of short slender hairs.

Abdomen and genitalia as in generic description and figs. 18-23. Aedeagus as in figs. 21-22 ; phallosoma of irregular shape, with one lateral spine-like chitinized process ; vesica forming two coils only, gradually tapering to apex. Claspers small, asymmetrical, the left-hand one pointed, the right-hand one

rounded apically, both at apex with a few short bristles. The appendage (X) at the base of which arises the anal cone as in figs. 20 and 23, rather thick, narrowed apically. Appendage at base of genital segment (fig. 20, Y) very elongate, inserted on left-hand side and directed towards right-hand side, shortly coiled about middle, thence forwardly bent, gradually tapering towards apex.



Chinannus bierigi n. g., n. sp. — Fig. 18 : Abdomen of male, ventral aspect ; fig. 19 : abdomen of male, lateral aspect ; fig. 20 : genitalia of male, dorsal view, with phallosoma (P) and its vesica (V), right-hand clasper (RC) and left-hand clasper (LC), anal cone (A), appendage at base of anal cone (X) and appendage at base of genital segment (Y), ninth segment (9) and seventh segment (7) ; fig. 21 : phallosoma, with its vesica (V), basal plates (BP), right-hand (RC) and left-hand (LC) clasper ; fig. 22 : phallosoma, another view ; fig. 23 : appendage at base of anal cone ; fig. 24 : abdomen of female, seen from below ; fig. 25 : detail of posterior border of last sternite bordering the genital opening ; fig. 26 : terminal segments of abdomen of female, dorsal view ; fig. 27 : apex of abdomen of female, seen from behind. *Biturunannus reuteri* Wygodzinsky, 1947, male — Fig. 28 : Phallosoma, with its vesica (V), basal plates (BP) and conjunctiva appendages (CA), right-hand (RC) and left-hand (LC) clasper ; fig. 29 : appendage at base of anal cone. Wygodzinsky del.

Brachypterous female. Length 1.0 mm ; maximum width across hemelytra 0.55 mm. Coloring and general morphological features as in male. General shape oval, highly convex, tapering anteriorly and posteriorly.

Ocelly absent ; eyes smaller than in male, the distance between them 9 times their width as seen from above. Rostrum and antennae as in male.

Hemelytra short, entirely coriaceous, not surpassing apex of abdomen, cleft posteriorly, highly convex; veins obsolete, indication of claval fork distinct; the portion along commissure somewhat flattened. Surface of hemelytra with delicate puncturation; distribution of punctures as in fig. 16; their distance from each other surpassing length of their diameter; each puncture with a very small bristle inserted in its center. In central region of hemelytron in addition to the punctures several very small bristle-bearing circular dots.

Sternites as in fig. 24; posterior margin of last sternite (bordering genital opening) very finely serrulate (fig. 25). Tergites as in fig. 26; last tergite rounded posteriorly.

Locality — Chitaria, Costa Rica, 26-3-1944, 7/11-4-1944, A. Bierig col (male holotype, female allotype, Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola; male paratype, female paratype, British Museum); without locality, though very probably from the same as mentioned above (5 females paratypes, in the author's collection).

The male of *Chinannus bierigi* n. sp. differs from that of only other species known, *trinitatis* (China, 1946) by the presence of ocelli, the absence of a row of pegs at the crevice formed by the thickened area on the hemelytra, the shorter lateral membranal cells, the much shorter vesica of the phallosoma and the differently shaped appendages of the genital segment.

The female differs from that of *trinitatis* by its more elongate body, its different color pattern and the obviously much more numerous punctures of the hemelytra.

The species is dedicated to Dr. A. Bierig, to whom we owe this as well as many other species of *Cryptostemmatidae* from Costa Rica.

Itagunannus n. g.

Winged male — No conspicuous sculpture elements present; hairs short, inconspicuous. General body form elongate oval.

Head small, strongly inclined; clypeus not salient. Eyes small. Rostrum short and stout, attaining the base of the metanotum only; first and second joints short and stout, third as long as first and second together. Antennae shorter than body.

Pronotal collar distinct. Propleura swollen anteriorly, extended below before eye. Meso- and metapleura simple, without any projections. Mesosternum with 1+1+1 small median apically rounded processes; metasternum medially with an oval strongly chitinized plate; no distinct posterior process present. Scutellum small.

Legs short and slender ; anterior and median tibiae very slightly curved, hind tibia straight. Tarsal formula 3-3-3. All joints with the usual bristles in moderate number ; spinelike bristles apically on all tibiae, as well as 2-3 subapical ones on posterior tibia. Praetarsus simple ; claws rather elongate, almost straight, each at its base with a small acuminate process.

Venation of hemelytra complete. First and second costal cells about equal in area but the separating vein strongly oblique so that the first cell is very much longer along costal margin than is the second ; the latter apparently subdivided apically by an obliquely transverse vein ; the vein bounding its apical margin joining the costa obliquely. This latter vein, which limits

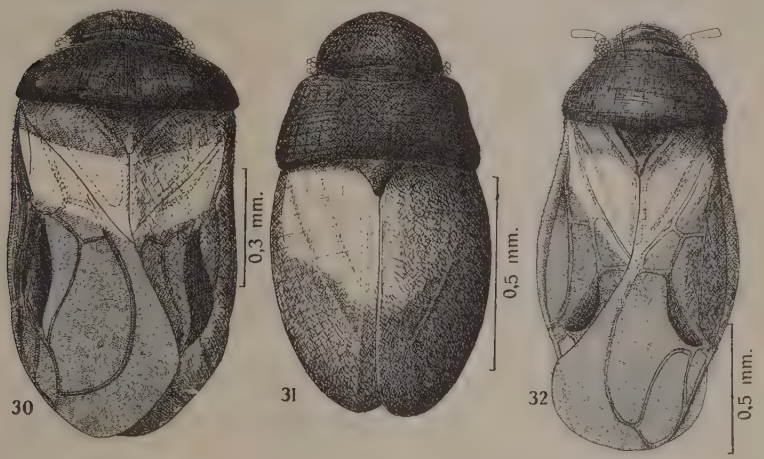


Fig. 30 : *Chinannus bierigi* n. g., n. sp., male ; fig. 31 : *Chinannus bierigi* n. g., n. sp., female, fig. 32 : *Itagunannus itaguaiensis* n. g., n. sp., male. Wygodzinsky del.

the corium, transformed partly into an elongate strongly thickened area. The usual two lateral cells of the membrane present, rather small. The usual free vein of the membrane joining posteriorly the inner lateral cell of the membrane, thus forming a very large membranal cell with the thickened vein which limits the corium.

Abdomen with apparently 6 visible sternites (I and II discernible as small chitinized areas in the membraneous base of venter) : III, IV, V, VI, VII and IX. Sternites with very numerous microchaetae (pubescence) and numerous irregularly arranged macrochaetae of moderate length. No parasternites discernible, with exception of those corresponding to segment VIII, which are situated dorsally at base of genital segment. Sternite IV at right-hand side with a very large forwardly directed projection which is hollowed out and forms a pouch with the somewhat prolonged lateral region of sternite III. Spiracles discernible on several segments. 9th segment large, covered only at its base by sternite VII. Vesica of aedeagus short, however distinct, slightly coiled. The

two claspers large, asymmetrical, conspicuous. Genital segment with a further single appendage, from the base of which arises the anal cone.

Genotype: *Itagunannus itaguaiensis* n.sp.

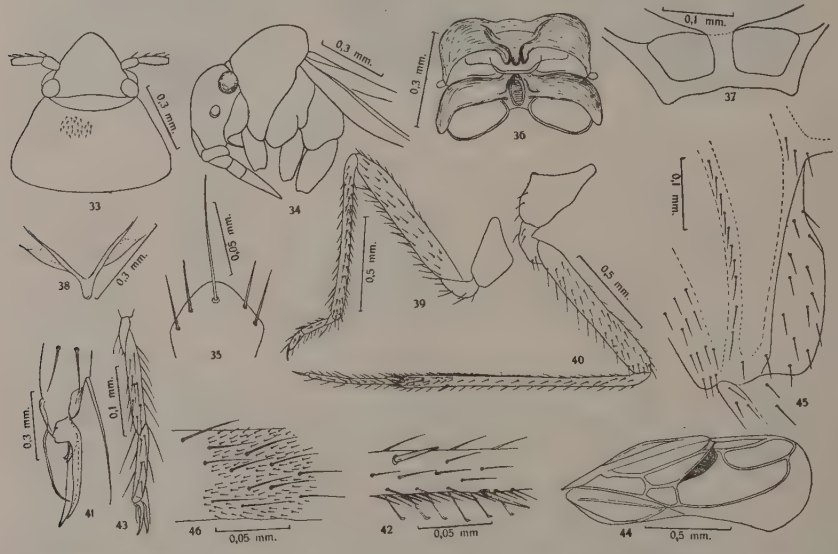
The winged male of this genus is apparently nearly related to *Chinannus* described above. It differs chiefly by the structure of the meso- and metasternum, the shape of the claws and the presence of basal processes to same, the large undivided cell in the membrane of the hemelytra, by the easily discernible spiracles, the absence of laterally situated parasternites, the large 9th segment, the very short and stout vesica of the phallosoma and the absence of an appendage at the base of the genital segment.

The generic name is taken from *Itaguai,* type locality of the only species included, and *nannus* = dwarf.

Itagunannus itaguaiensis n. sp.

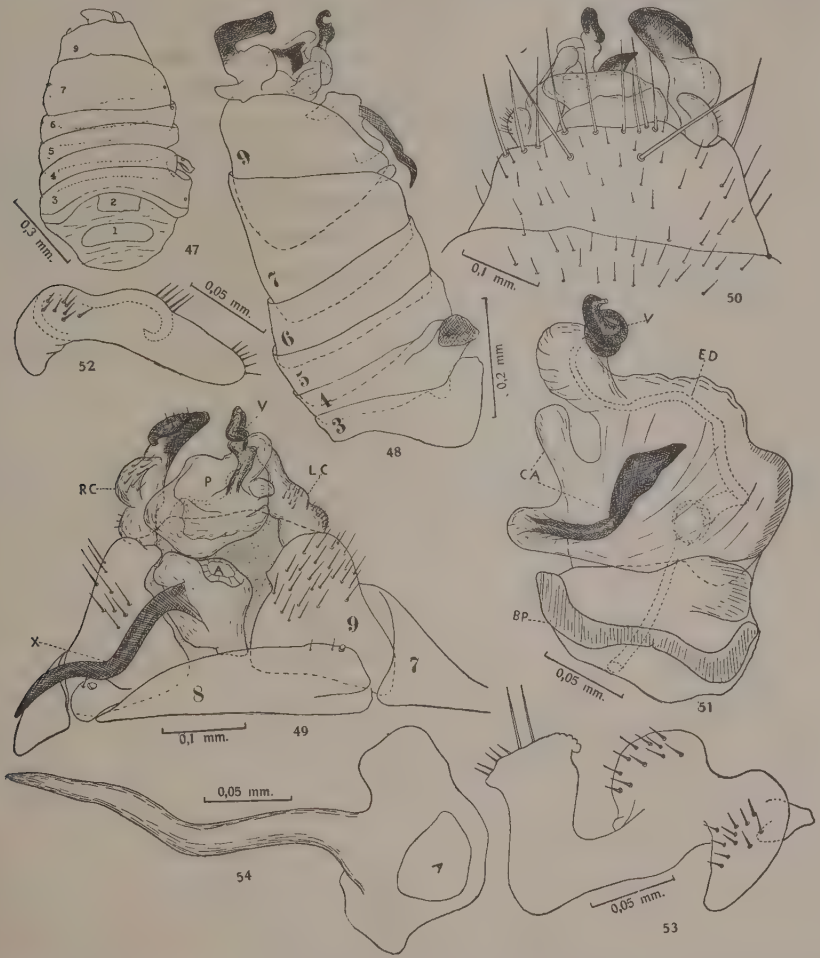
(Figs. 32-54)

Winged male — Length (as seen from above) 1.6 mm., maximum width of pronotum 0.6, across hemelytra 0.8 mm.



Itagunannus itaguaiensis n. g., n. sp., male — Fig. 33: Head and prothorax, as seen in slide preparation; fig. 34: head and thorax, lateral aspect; fig. 35: apex of clypeus; fig. 36: meso- and metasternum; fig. 37: metanotum; fig. 38: scutellum; fig. 39: leg of first pair; fig. 40: leg of hind pair; fig. 41: practarsus with claws; fig. 42: detail of posterior tibia; fig. 43: posterior tarsus; fig. 44: hemelytron; fig. 45: base of hemelytron, high magnification; fig. 46: detail of sternite V. Wygodzinsky del.

General shape (fig. 32) elongate oval, rather strongly widened at middle. General color very dark, head, pronotum, scutellum and pleura blackish; abdomen brown; antennae, rostrum and legs yellowish; hemelytra piceous,



Itagunannus itaguaiensis n. g., n. sp., male — Fig. 47: Abdomen, seen from below; fig. 48: abdomen, lateral view; fig. 49: apex of abdomen, seen from above; seventh sternite (7), parasternites of eighth segment (8), ninth segment (9), phallosoma (P) with its vesica (V), right-hand (RC) and left-hand (LC) clasper, anal cone (A) with appendage (X) arising from its base; fig. 50: apex of abdomen, seen from below; fig. 51: phallosoma, with basal plates (BP), vesica (V), ejaculatory duct (ED) and conjunctiva appendages (CA); fig. 52: left-hand clasper; fig. 53: right-hand clasper; fig. 54: appendage arising from base of anal cone. Wygodzinsky del.

veins of dark parts deep black; distal 2/3 of clavus and inner base of corium adjoining clavus whitish, resulting in a large transverse subtriangular fascia across the hemelytra when closed.

Head subtriangular, rounded anteriorly; its bristles short, much shorter than first joint of antennae. Clypeus with a few distinct bristles, the one at apex longer than the others. Eyes small, rounded, the distance between them less than 4 times their diameter as seen from above. Ocelli absent. Rostrum short and stout, attaining base of metasternum, tapering gradually towards apex of third joint; relative length of joints = 1 : 1.0 : 2.7.

Pronotum simple, strongly widened posteriorly, posterior border slightly rounded. Bristles short and sparse, similar to those of head. Meso- and metapleura simple, rounded posteriorly (fig. 34). Scutellum as in fig. 38, somewhat excavate at disk, distinctly produced apically into a short cylindrical process. Metanotum as in fig. 37, simple, not wrinkled.

Meso- and metasternum as in generic description (fig. 36). Legs (figs. 39-43) as in generic description.

Hemelytra as in generic description, the thickened vein at border of corium without specialized bristles. Shape of cells as in fig. 44; veins with one or two rows of delicate short bristles (fig. 45).

Abdomen and genital segments as in generic description and figs. 46-54. Spiracles distinct on right-hand side of segments III, IV, VI and VII, on left-hand side of VI and VII, as well as on parasternites VIII, situated dorsally at base of genital segment. Sternite VII on its posterior margin with a small projection left of center. Phallosoma (fig. 51) rather large, of irregular shape, with one lateral rather large spine-like chitinized process; ejaculatory duct very distinct; vesica short and thick, strongly chitinized, with two coils, strongly tapering towards apex, phallosoma mouth very distinct. Claspers relatively large, the left-hand one elongate (fig. 49 LC, 52), its structure rather simple, gradually tapering towards apex, with three groups of small setae; the right-hand clasper (fig. 49 RC; 53) of more complex structure, with three groups of bristles, possessing a distinctive subbasal and a submedian lobe, strongly bent before apex, apical portion heavily chitinized, its shape subrectangular. Appendage of genital segment (fig. 49 X; 54) strongly chitinized, elongate, curved, gradually tapering towards its acuminate apex; from its base rises the anal cone (A).

Locality — Km. 47 of the Rio-S. Paulo Road, Municipality of Itaguai, State of Rio de Janeiro, Brazil, 21-2-1947, at light, Wygodzinsky col. (male, holotype, Instituto de Ecologia e Experimentação Agricola).

The female of this species is unknown; it is probably brachypterous and resembles that of *Ptenidiophyes* and that of the new genus described above.

SUMMARY

The author discusses the polymorphism in the *Cryptostemmatidae*, and specially in the *Schizopterinae*; attention is called to the characters believed to be of generic value in this group. Some considerations are made on the

structure of the abdominal segments of the male; the construction of the male genitalia is shown. *Chinannus bierigi* n. g., n. sp., from Costa Rica and *Itagunannus itaguaiensis* n. g., n. sp. from southeastern Brazil are described and figured in detail. *Ptenidiophyes trinitatis* China, 1946, is included as second species of *Chinannus,* and the relations of this latter to the real *Ptenidiophyes* are discussed.

BIBLIOGRAPHY

China, W. E., 1946, New Cryptostemmatidae (Hemiptera) from Trinidad, British West Indies. *Proc. R. Ent. Soc. London* (B), 15 (11-12) : 148-154, 5 figs.

Reuter, O. M., 1891, Monographia Ceratocombidarum Orbis Terrestris. *Act. Soc. Sci. Fenn.,* 19 (6) : 27 pp., 1 pl.

McAtee, W. L. & Malloch, J. R., 1925, Revision of bugs of the family Cryptostemmatidae in the collection of the United States National Museum. *Proc. U. S. Nat. Mus.,* 67 (13) : 1-42, 4 pls.

Wygodzinsky, P., 1947 a, Sôbre um novo gênero e uma nova espécie de Schizopterinae do Brasil (Cryptostemmatidae, Hemiptera). *Bol. Ent. Venezolana, Caracas,* 6 (1) : 25-35, 17 figs.

Wygodzinsky, P., 1947 b, Sur le Trichotonannus setulosus Reuter, 1891, avec une théorie sur l'origine des harpagones des Hétéroptères mâles (Hemiptera Heteroptera, Cryptostemmatidae). *Rev. franç. Ent., Paris,* 14 (2) : 118-125, 23 figs.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 157-164
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

CRÍTICA BIBLIOGRÁFICA

ANDERSON, C. G., 1946, AN INTRODUCTION TO BACTERIOLOGICAL CHEMISTRY, 2nd ed., X + 500 pp., 12 figs., 34 tabs., E. & S. Livingstone, Ltd., Edinburgh.*

A evolução no estudo de todos os ramos das Ciências Biológicas, do sentido puramente estático para o dinâmico, vem se fazendo sentir progressivamente. Assim, no que respeita à Bacteriologia, cujo estudo de início se limitava quase exclusivamente à morfologia, verifica-se que a tendência moderna se orienta no sentido da fisiologia. Esse interesse cada vez maior com relação ao estudo da Fisiologia e Bioquímica dos microorganismos tem dado origem a uma série de publicações relativas ao tema. Todavia, esses trabalhos, de um modo geral, abordam somente um determinado ângulo do problema, sem analisar o assunto em conjunto.

O presente livro, no dizer do próprio autor, representa o conjunto das lições de química bacteriana ministradas nos cursos de Bacteriologia das Universidades de Londres e Edinburgo. Já a primeira edição publicada em 1938 veio preencher uma lacuna até então existente, recebendo franca acolhida por parte de todos os estudiosos do assunto. De então para cá oito anos decorreram e o livro foi novamente editado, revisto, ampliado, atualizado e enriquecido com dois novos capítulos não existentes na edição anterior, como sejam os relativos à Quimioterapia e Antibióticos, além de incluir um novo apêndice contendo a sinonímia dos principais microorganismos.

O livro está dividido em três partes e contem dois apêndices.

A primeira parte trata de Considerações Gerais compreendendo os seguintes capítulos : I — Introdução ; II — Concentração de ions hidrogênio e pH ; potenciais de óxido-redução ; III — Coloides e adsorção ; IV — Enzimas ; V — Composição química das bactérias, levedos e cogumelos inferiores. Esta primeira parte conforme se vê, trata das noções básicas fundamentais necessárias à compreensão das duas outras que se seguem.

A segunda parte do livro, rotulada com o nome de Metabolismo, é a mais bem desenvolvida. Nela são focalizados os aspectos mais importantes relativos à Fisiologia e Bioquímica das bactérias, sendo o assunto distribuido em 16 capítulos.

---

* Ofertado pelo Conselho Britânico.

Os dois primeiros capítulos são dedicados ao estudo da nutrição das bactérias autotróficas e heterotróficas e no terceiro são estudados os enzimas adaptativos e constitutivos. Em seguida, os fatores de crescimento são abordados em linhas gerais, mas de modo bastante claro. Seguem-se os dois novos capítulos não existentes na edição anterior, Quimioterapia e Antibióticos, onde são estudados respectivamente os diversos agentes quimioterapêuticos e sua ação sôbre os diferentes microorganismos e as principais substâncias antibióticas, de modo esquemático mas suficientemente claro. O capítulo seguinte é dedicado à respiração bacteriana e o estudo do metabolismo do carbono e do nitrogênio é feito em dois capítulos separados. Posteriormente estuda as fermentações, assunto que é abordado em três capítulos, compreendendo a fermentação alcoólica, os produtos provenientes das fermentações por cogumelos inferiores e as fermentações industriais.

Termina esta parte com 4 capítulos dedicados ao estudo das proteinas, polissacarídeos, lipóides e pigmentos dos microorganismos.

A terceira parte é dedicada à Imunoquímica e nela são estudados os antígenos, haptenos, anticorpos e complemento, bem como o mecanismo das reações antígeno-anticorpo, na base das modernas teorias.

Finalmente, como apêndices, o autor colocou dois ítens : I — Isolamento e identificação de produtos metabólicos ; II — Sinônimos. O primeiro desses ítens é muito util e prático, sendo aí discriminada a marcha a seguir para a identificação das diversas substâncias resultantes do metabolismo dos microorganismos.

A bibliografia é dada no final de cada capítulo e se bem não seja abundante, indica os principais trabalhos de revisão escritos sôbre cada assunto.

O livro é excelente. Escrito em linguagem clara e de maneira ordenada, sua leitura se torna indispensavel a todos aqueles que se dedicam ao estudo das atividades metabólicas dos microorganismos.

Amadeu Cury.

GODWIN, H., 1946, PLANT BIOLOGY. AN OUTLINE OF THE PRINCIPLES UNDERLYING PLANT ACTIVITY AND STRUCTURE, 4th ed., XI + 308 pp., 83 figs., Cambridge University Press, Cambridge.*

O livro destina-se especialmente a estudantes do primeiro ano de Medicina e em geral a estudantes do mesmo nível em outros ramos da Biologia. O plano geral da exposição é o seguinte. Inicialmente os vegetais são apresentados como organismos vivos, considerados em conjunto ; distinguem-se, então, os vários planos de organização que se podem considerar, conforme o

* Ofertado pelo Conselho Britânico.

ponto de vista que se adote. Encaram-se primeiramente as plantas do ponto de vista físico-químico, como sistemas de cristalóides e colóides. Em seguida introduz-se o ponto de vista químico; focalizam-se as substâncias produzidas pelo organismo vegetal, fazendo-se o trânsito para o ponto de vista energético através das enzimas. Passa-se, então, ao estudo do metabolismo vegetal em suas grandes linhas (cap. IV), comparando-se o esquema das plantas superiores com o dos animais. O exame desse mecanismo energético na estrutura da planta conduz ao estudo geral da célula (Cap. V), por um lado, e, por outro, ao estudo geral da Fotossíntese (Cap. VI).

Com esse panorama de fenômenos gerais, que traduzem a aplicação de alguns pontos de vista básicos, o autor percorre os grandes grupos taxonômicos, mostrando as particularidades que os prismas gerais permitem extrair em cada grupo: levêdos e bactérias (Cap. VII), em que se estende bastante sôbre as bactérias, fazendo o estudo comparativo sumário dos diversos tipos de metabolismo e dos ciclos do C,N,S, Fe; fungos (Cap. VIII), em que apresenta vários tipos, destacando *Mucor* e *Perenospora,* cujos ciclos são comparados; Algas verdes (Cap. IX), em que estuda *Clamydomonas, Sphaerella, Volvox* e *Spirogyra;* Algas pardas (Cap. X), em que toma como paradigma *Fucus;* Briófitas, em que escolhe um Musgo *(Funaria)* e uma Hepatica *(Pellia)* para expor as principais características da sub-secção; finalmente, no Cap. XII, apresenta as principais carcterísticas gerais das Pteridófitas.

Nesse percurso reuniram-se os elementos de indução de que o autor precisava para se elevar do plano citológico ao plano histológico. No Cap. XIII são, pois, expostos os conhecimentos fundamentais da histologia vegetal, finalisando o capítulo com um quadro comparativo muito didático.

Do plano histológico passa-se ao organográfico: nos capítulos XIV, XV, XVI e XVII são estudadas as principais categorias organográficas das plantas superiores: raiz, caule, folha, flôr e semente, encaradas em conjunto a morfologia e a fisiologia.

O trabalho representa uma tentativa bem lançada de exposição, em que sobressaem algumas qualidades científicas e didáticas, que merecem ser bem consideradas e meditadas pelos autores de livros escolares e pelos organisadores de programas:

1) preocupação de mostrar a importância do ponto de vista físico-químico em Biologia; 2) distinção dos vários níveis de organização: organismo, órgão, tecido, célula, organela; 3) substituição das vagas generalidades descritivas em Sistemática pela escolha de tipos representativos de cada grupo e passíveis de observação direta; 4) abandono do recurso explicativo grosseiro do finalismo, tão em voga em numerosos tratados.

Seria de desejar que, dentro desse mesmo espírito de síntese e, nessas mesmas nórmas de organização, se tentasse uma obra mais ampla, sem sacrifício do carater elementar, abrangendo os fundamentos da geobotânica, da paleontologia e da genética.

Luiz Gouvêa Labouriau.

TURNER, J. W. edit., 1946, NATURE IN BRITAIN, 324 pp., 132 figs., 48 pls., **Collins**, London.*

Êste livro não é um texto científico. Foi escrito para os que amam a natureza, e que desejam obter algumas informações mais pormenorizadas, porém não altamente técnicas. Os diversos artigos dos quais se compõe o livro, introduzem o leitor no estudo do assunto, apresentando fatos e idéias, sôbre os homens que forjaram os nossos conhecimentos, sôbre as plantas e animais, a sua vida e origem, e as suas relações com a nossa economia e a nossa vida cultural e espiritual. Um grande número de figuras, das quais muitas reproduções de antigos livros inglêses de história natural, adornam o livro. Apreciamos especialmente os retratos dos grandes naturalistas, geralmente tão pouco acessíveis para nós. As excelentes reproduções em preto e branco, no texto, contrastam um pouco com as planchas em côres, que nos parecem, na maioria, pouco felizes, menos no aspecto científico, o qual certamente não deixa a desejar, do que do ponto de vista técnico e artístico. A técnica usada para estas reproduções não mantem o alto "standard" das reproduções no texto.

Além da introdução, temos "Trees in Britain" (A.L. Howard), interessante para nós que vivemos num país onde a árvore é quase exclusivamente considerada como um objeto de interesse comercial; "Wild flowers in Britain" (G. Grigson); "Wild life in Britain" (A.L. Howard) que trata dos mamíferos e passaros, em cuja observação paciente os inglêses têm sido mestres; "British marine life" (C.M. Yonge); "Insect life in Britain" (G. Taylor). Na última seção queremos salientar as ilustrações de Vere Temple, mormente o desenho das ninfas de *Tettigonia viridissima,* que na composição e execução lembra trabalhos de mestres antigos.

O presente livro não dá somente uma bôa idéia das coisas do campo na Inglaterra, mas dá também, o que tem valor especial, uma forte impressão do gosto do inglês, povo essencialmente habitante de cidades, pela vida e observação dos animais e plantas silvestres . Quem se interessa pela história e cultura da Grã Bretanha, encontrará nêste livro uma grande riqueza de informações.

Petr Wygodzinsky.

LEA, D. E., 1946, ACTIONS OF RADIATIONS ON LIVING CELLS, XII + 402 pp., 61 figs., **Cambridge University Press**, Cambridge.*

A ação das radiações sôbre os sêres vivos assumiu nova importância depois do recente emprego da energia atômica. Todavia, para o biologista e especialmente o geneticista, o assunto é desde muito apaixonante, na verdade a partir de 1927, quando H.J. Muller descobriu que, dóses adequadas de raios X aumentam consideràvelmente a taxa das mutações, sem esquecer a impor-

* Ofertado pelo Conselho Britânico.

tância prática daqueles raios no campo da medicina (rádio diagnóstico e rádioterapia).

Por tudo isso, um livro de conjunto se impunha. O do Dr. Lea, cujo desaparecimento prematuro e acidental todos deploram, corresponde portanto a uma necessidade geral.

O propósito do A. ressalta das seguintes palavras do prefácio: "Escrevendo êste livro tive a intenção de expôr algumas das ações mais simples e mais fundamentais dos ráios X e outros agentes ionisantes sôbre as células vivas." Declara mais, não ter pretendido "analisar todo o campo dos efeitos biológicos das radiações", mas "pensou que um fim útil seria dar uma discussão razoàvelmente detalhada do mecanismo das ações daquelas radiações, por uma descrição breve das propriedades e métodos de manipular os organismos em estudo". Acrescenta que "o estudo da ação das radiações sôbre virus, gens e cromosomas atingiu o estádio no qual as experiências são, em sua maioria, quantitativas, e por isso as interpretações precisam envolver até certo grau, noções de matemática". No entanto procurou deixar "os detalhes algébricos tanto quanto possível na penumbra e fornecer gráficos e tábuas que permitam ao experimentador interpretar seus resultados, sem que se exija qualquer habilidade matemática especial".

A multiplicidade dos assuntos tratados obrigou o A., um médico, a se valer da colaboração de numerosos colegas.

O livro póde ser resumido da seguinte maneira (prefácio): "Depois de capítulos introdutivos onde são descritas as propriedades físicas mais salientes e os efeitos químicos das radiações ionisantes, o grosso da obra é ocupado pela discussão dos efeitos das radiações sôbre os virus, bem como os gens e cromosomas das células superiores. No capítulo final a morte das células pelas radiações é discutida, até onde a podemos compreender à luz dos capítulos precedentes".

O livro abrange os seguintes capítulos: 1 — *Propriedades físicas e dosimetria das diferentes radiações* (abrangendo ráios U. V., ráios X, raios, γ, ráios β e catódicos, ráios α, protons e neutrons, ráios δ). 2 — *Efeitos químicos das radiações ionisantes e mecanismo possível da ação biológica das radiações*. 3 — *A teoria do alvo*. O A. reconhece os fatores de complicação que conduziram alguns investigadores ao abandono dessa teoria, mas acha que podemos usá-la para medir o volume dos virus, bactérias e gens, utilisando para isso métodos apropriados baseados no tipo de radiação, tamanho do alvo e quantidade de radiação secundária. 4 — *Inativação dos virus pelas radiações*, onde discute os virus, seu tamanho, a estimativa de sua atividade e a técnica e interpretação de sua inativação pelas radiações. O efeito das radiações sôbre os virus é particularmente interessante pois, o A. concordando com outros pesquisadores, considera-os como intermediários entre sêres vivos e materiais não vivos, sendo notável ainda a analogia entre virus e gens quanto a seu tamanho, comportamento e constituição química. A inativação dos virus

seria devida a uma única ionisação e também um único *quantum* U.V. a causaria. 5 — *Efeitos genéticos da radiação,* onde trata do mecanismo da herança, das mutações, da natureza dos gens, das mutações cromosômicas e do efeito de posição, da produção de mutações visíveis pela radiação, das várias classes de mutações nas Drosophilas, tais como letais recessivas e das relações entre letais e mudanças na estrutura dos cromosomas, bem como dos letais dominantes. Deduz o tamanho do gen na *Drosophila* que avalia em uma esfera de 2 a 6 m (peso molecular de 10.000 — 100.000). Calcula então o número de gens do cromosoma X da *Drosophila melanogaster* em 838 (tamanho de gen 4 m μ) a 281 (6 m μ). Notou que por outros métodos o número desses gens foi computado em 500 a 1000, o que constitue notável acordo. Trata ainda dos ráios cósmicos e mutações, bem como dos efeitos genéticos da luz U.V.. 6 — *Produção de mudanças na estrutura dos cromosomas pela radiação,* capítulo particularmente dedicado a exposição dos resultados experimentais. Já tendo discutido o assunto na Drosophila e no milho, em capítulos precedentes, ocupa-se mais particularmente com *Tradescantia* e analisa as mudanças de estrutura fisiológicas dos cromosomas, os tipos de mudança de estrutura (quebras de cromosomas e quebras de cromatideas, mudanças intracromosômicas e intracromatídeas, translocações, etc.), bem como a relativa eficiência dos diferentes comprimentos de onda e os tipos de radiação ionisante e finalmente as mudanças de estrutura produzidas pelos ráios U.V.. 7 — *O mecanismo da indução das mudanças de estrutura cromosômica* — Baseados principalmente no material experimental fornecido por *Drosophila* e *Tradescantia* podemos elucidar até certo ponto os mecanismos envolvidos. A análise matemática permite concluir que possivelmente as quebras são causadas por uma partícula ionisante, capaz de produzir ionisações dentro da área efetiva do alvo. A maioria das quebras volta a situação primitiva dentro de poucos minutos. O tipo e a frequência das aberrações após dóses diferentes, e diferentes tipos de radiação permite uma estimativa do número de ionisações necessárias para causar uma fratura em um cromosoma. 8 — *Divisão retardada* — Uma inhibição temporária da divisão celular parece ser uma ação geral da radiação. Analisa o efeito da dóse sôbre o fenômeno, mostrando que seus caracteres diferem muito dos anteriormente estudados. Seria uma ação química, conduzindo à destruição de alguma substância necessária à divisão ou à produção de uma substância inhibidora. Discute várias questões ligadas ao problema e estabelece que o estadio sensível é algum momento na profase ou pouco antes dela. 9 — *Efeitos letais* — Trata dos bem conhecidos efeitos letais sôbre células ou organismos, assunto que importa principalmente por causa da ação das radiações no tratamento do cancer. Não procura analisar toda a vasta literatura sôbre a matéria, mas apenas sôbre "a morte de sêres unicelulares e células individuais pertencentes a sêres pluricelulares e mais particularmente ações letais que podem ser compreendidas em têrmos dos mecanismos descritos nos capítulos precedentes". Ocupa-se com a causa da morte por ocasião da divisão, com a inativação dos

virus, a morte das bactérias, bem como com alterações letais na estrutura dos cromosomas (*Drosophila, Tradescantia,* raíz de feijão, alterações fisiológicas letais nos cromosomas e herança da esterilidade parcial). Aplica essas noções aos tecidos animais que se multiplicam rapidamente. Finalmente há um apêndice onde trata de "*Calculos suplementares,* cujos resultados são exigidos pelo texto, mas cujos detalhes só têm interesse teórico".

Ao texto de 363 pp. ségue-se uma vasta bibliografia de 21 pp. e índices de autores e de assuntos.

A breve análise que acaba de ser feita servirá apenas para chamar a atenção dos interessados (investigadores, médicos, geneticistas e biologistas, bem como dos físicos interessados em biologia) para uma obra escrita com excepcional clareza e muito bem documentada sôbre matéria da maior relevância.

André Dreyfus.

BARCROFT, J., 1946, RESEARCHES ON PRE-NATAL LIFE, vol. I, XIII + 289 pp., 124 figs. Blackwell Scientific Publ., Oxford.*

Neste livro, Joseph Barcroft procura dar, sob forma harmônica, os resultados por ele obtidos sôbre a fisiologia pre-natal. Escrito em pleno período de guerra, seu autor admitia a possibilidade de uma bomba pôr termo ao seu trabalho. Barcroft, porém, não se deteve, e diz no prefácio que espera que este não seja seu último livro. Quiz o destino, porém, que fosse o último. Joseph Barcroft faleceu há alguns mêses atrás e com sua morte perde a fisiologia contemporânea um dos seus mais ilustres representantes.

Desde longa data dedicava-se Barcroft aos estudos da fisiologia da respiração, especialmente às funções respiratórias do sangue. Nestes últimos anos sua atenção voltou-se mais para a fisiologia do feto, particularmente circulação, respiração e atividade nervosa. Este último aspecto da fisiologia do feto, já foi motivo de um livro — "The brain and its environnement" resultante das Terry Lectures que o autor fez na Yale University em 1937. "Researches on pre-natal life" consta de 2 volumes, dos quais só o primeiro foi, até o momento, publicado; o segundo volume, de cuja publicação ainda não há informações, constará da fisiologia do sistema nervoso e metabolismo.

No primeiro volume são abordados problemas variados de fisiologia pre-natal circulatória, respiratória, etc. sempre relacionados com pesquisas que o autor realisou. Os primeiros capítulos são dedicados à disposição dos vasos na placenta e à passagem pela placenta de água, sais, oxigênio, proteinas, etc. Problemas que ainda convidam a uma explicação satisfatória, como a passagem de água do organismo materno para o fetal, são abordados e expostos nos seus justos limites.

---

* Ofertado pelo Conselho Britânico.

Num dos capítulos seguintes é abordado o problema da influência da dieta materna no crescimento do feto. Mostra-se aí a importância fundamental da dieta e a maior influência no desenvolvimento do feto de uma carência materna nos últimos períodos da gestação.

Vários capítulos são dedicados ao estudo do volume sanguíneo circulante no feto, conteúdo em água dos tecidos fetais, consumo de oxigênio pelos tecidos, débito cardíaco, pressão arterial, evolução dos reflexos vasculares de ajuste de pressão arterial, capacidade de oxigênio do sangue fetal, curvas de dissociação de oxigênio, equilíbrio ácido-básico, determinação da quantidade de oxigênio na artéria e veia umbilical e na carótida do feto e um capítulo final sôbre os fatores que intervêm na produção dos movimentos respiratórios fetais, seja na vida intra-uterina seja na extra-uterina. Mostra, então, como evolue, na vida intra-uterina, o tipo de movimentos respiratórios e a influência que excitações sensitivas têm sôbre a aparição destes movimentos. Depois, na vida extra-uterina, o papel desempenhado, seja pelas excitações extero- e interoceptivas e pelas modificações humorais decorrentes da ligadura umbelical, na passagem para uma vida com respiração pulmonar.

H. Moussatché.

Rev. Brasil. Biol., 8 (1) : 165-167
Abril, 1948 — Rio de Janeiro, D.F.

NOTÍCIAS E COMENTÁRIOS

REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

A Comissão de Redação apresentou ao Conselho Científico da *Revista Brasileira de Biologia,* que o aprovou, o seguinte balancete correspondente ao ano de 1947 :

RECEITA :

Saldo em 23 de Janeiro de 1947

(data do encerramento do balancete anterior)	CR$	65.535,40
Contribuição do Dr. Guilherme Guinle		50.000,00
Contribuição da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro		7.910,00
Contribuição da Sociedade de Biologia de São Paulo		9.870,00
Contribuição da Sociedade de Biologia de Minas Gerais		2.030,00
Assinaturas e separados		12.571,00
Juros de depósitos no Banco Boavista		2.653,70
Total da RECEITA	CR$	150.570,10

DESPESA :

Impressão da edição do vol. 7 da Revista e dos separados	CR$	70.263,00
Clichés para o volume 7		6.721,80
Secretaria e Expediente		1.308,00
Total da DESPESA	CR$	78.292,80

SALDO em 31 de Dezembro de 1947 ..... CR$ 72.277,30

(depositado no Banco Boavista, Agencia Avenida, conta corrente 21.287).

2.ª REUNIÃO CONJUNTA DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA DO BRASIL

Sob o patrocínio do Govêrno do Estado de Minas Gerais e da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais, realisou-se durante a primeira quinzena de Dezembro a 2.ª Reunião Conjunta das Sociedades de Biologia do Brasil.

O Congresso reuniu elementos do Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte e Recife, tendo sido apresentados 55 trabalhos experimentais.

A sessão inaugural foi presidida pelo Governador Milton Campos que compareceu com todos os seus auxiliares de govêrno e pelo presidente efetivo Prof. Octavio de Magalhães.

Saudou os congressistas o Presidente da Sociedade de Biologia de Minas Gerais, tendo agradecido em nome daqueles o Prof. Rocha e Silva. O Prof. André Dreyfus, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo fez após uma conferência sôbre "A evolução das espécies; problema experimental".

Às várias seções do Congresso foram apresentados os seguintes trabalhos:

Seção de Biologia Geral

Clemente Pereira & M. P. Castro — Forese e Partenogenese arrenotoca em *Macrocheles muscae domestica* (Scopolli).

A. Dreyfus & Rosina Barros — Mutações cromosômicas em hibridos de *D. paranaensis* x *D. M. pararrepleta.*

Newton Maia — Estudos sôbre a citologia e a genética de *D. montiom.*

Elisa Nascimento Pereira — Nota prévia sôbre o isolamento sexual entre fêmeas hibridas *(D. M. pararrepleta* x *D. paranaensis)* x Machos parentais.

Mercedes Rachid — Nota sôbre certas plantas contunicas.

Felix Rawitscher — O problema das savanas brasileiras e das savanas em geral.

A. Hogue — Dimorfismo sexual em boideos.

G. Schreiber, R. F. de Mello & G. A. Salvatore — O crescimento rítmico nuclear durante as fases fisiológicas dos tecidos uterinos.

G. A. Salvatore & G. Schreiber — Variações cíclicas do volume nuclear das células intersticiais do ovário da rata.

José Amaral Gurgel — Feno genética da coloração do cacho da mamoneira.

F. Brieger — Método moderno do melhoramento do milho.

Salvador Toledo Piza — Cromosomos de escorpiões.

Seção de Fisiologia

Paulo Sawaya — Influência de anestésico sôbre a coagulação do sangue de crustáceos.

Paulo Sawaya & Domingos Valente — Efeito do número sôbre o consumo do oxigênio por animais aquáticos.

Paulo Sawaya & Alba Maranhão — Respiração e reprodução de peixes neotrópicos.

Erasmo Garcia Mendes & Maria Dolores Ungaretti — A função da hemoglobina nos invertebrados. Experiências com *Limnodrilus hofmeisteri* (Oligoqueto).

G. Rosenfeld — Nova combinação pancrômica para coloração hematológica.

G. Rosenfeld & L. Nahas — Ação de ácidos, aminoácidos sôbre a leucocitose neutrofila.

C. Foá — Os lipides da tireoide

C. Foá — A regeneração do sangue no "sapo salgado" sob estímulos diversos.

C. Foá — Esclarecimento necessário sôbre o caso de extratos hepáticos nas anemias secundárias.

A. T. Leão & F. C. Vasconcelos — Utilização do sapo macho *(Bufo marinus)* no diagnóstico da gravidez.

Maurício Rocha e Silva — Ativação do poder fibrinolítico do plasma sanguíneo.

Maurício Rocha e Silva — Libertação da histamina e heparina do fígado do cão, nos choques anafilático e peptônico.

Oswaldo G. Lima & Nelson Chaves — A mucunã como alimento.

Erasmo Garcia Mendes — Metabolismo do CO nos tecidos animais.

Seção de Parasitologia e Zoologia Médica

Bertha Lutz — A evolução ontogenética dos anfíbios anuros e suas relações com a evolução dos vertebrados terrestres.

M. P. de Castro — Reestruturação genérica da família *Rhynompsidae* Vitzthum, 1935 (Acari: Parasitiformes).

M. P. de Castro & Clemente Pereira — Ácaros nasiculas (Parasitiformes: Rhynompsidae) do Pardal — *Passer domésticus L.*

C. Pereira, R. Cuoculo & W. F. Almeida — Flora e fauna intestinais em pessoas com perturbações entéricas.

M. J. Mello & C. Pereira — Sôbre um fator individual na gênese da "esponja" dos equídeos.

J. Lane & E. X. Rabello — Descrição do alótipo (macho) de *Anopheles (Arthuromyia) pseudotibiamaculatus.*

Ernesto X. Rabello & L. Travassos Filho — Contribuição para o conhecimento das *Ctenuchidae* (Lep) 6.ª.

Ernesto X. Rabello — Contribuição para o conhecimento das *Ctenuchidae* (7.ª).

L. Travassos Filho & Messias Carrera — Contribuição para o conhecimento de *Pseudogaurax longillineatus.*

L. Travassos Filho — Redescrição de *Pericopsis picta* (Guerin, 1844) (Lep. Pericopidae), estudo de suas fases cromáticas e dados bionômicos.

Lindolfo R. Guimarães — Sôbre algumas espécies do gênero *Polygenis* Jordan, 1939 (Pulicidae, Suctoria).

Nery Guimarães — Viceralisação da *Leishmania brasiliensis* em Hamster (Cricetus auratus).

D. Lucena — Os planorbideos do Nordeste — 1.ª Contribuição ao seu estudo ecológico e distribuição geográfica.

Frederico Simões Barbosa — *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) da região neotrópica.

Seção de Microbiologia, Imunologia e Farmacologia

O. Magalhães — Sôro antiescorpiônico.

O. Magalhães & Adyr Rocha — Contribuição ao conhecimento do tifo exantemático neotrópico no Brasil.

F. Ottensooser, R. Faria & R. Pasqualin — Incompatibilidade materno-fetal O. B., com alto teor de anticorpos no leite.

J. Grego — Aerobiologia em Belo Horizonte.

Rocha Lagoa — Considerações sôbre o mixoma dos coelhos e suas relações com os tumores humanos.

Frederico Simões Barbosa & J. Renda — Lesões simultâneas da pele e dos pelos por *Trichosporon* sp.

Frederico Simões Barbosa & Luiz Inacio de Andrade Lima — Considerações em tôrno de um caso de "Lingua Negra Pilosa".

L. Bogliolo — Sôbre o comportamento das membranas agentófilas na hipertensão experimental.

L. Bogliolo — Tentativa de classificação dos processos de hialinoses no rim.

D. Lucena — Tratamento da malária pelo Aralen.

V. Carneiro — Moléstia de Aujeszky em Suinos.

Humberto Teixeira Cardoso & Maria de Lourdes Santos — Estudos sôbre a presença de antibióticos nos vegetais.

Humberto Teixeira Cardoso, Clotilde Pirro & Maria de Lourdes Santos — Sôbre a presença de um antibiótico no latex do mamoeiro *(Carica papaya).*

S. Americano Freire — Ação diurética da formoguanamina (2 trabalhos).